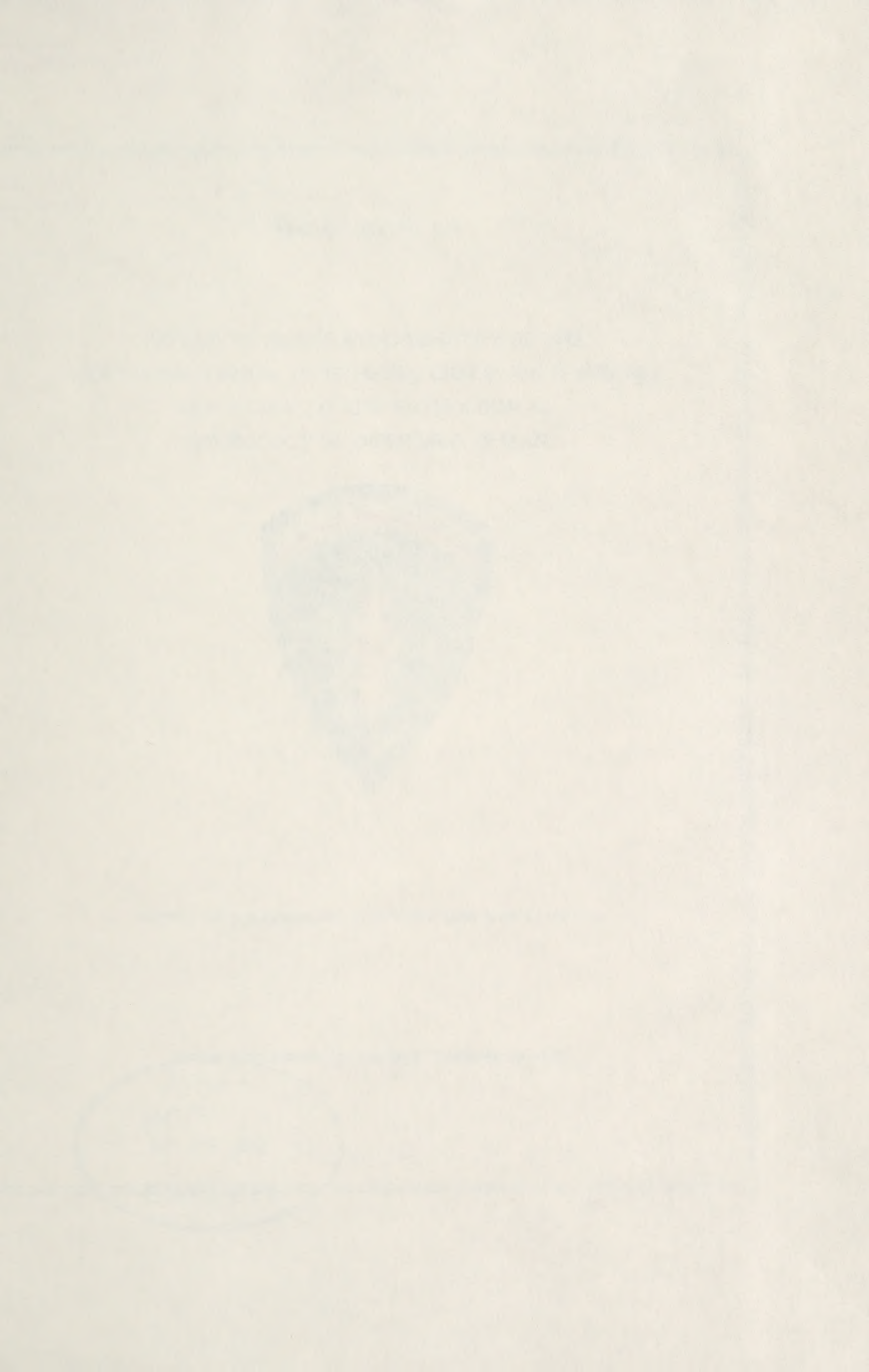
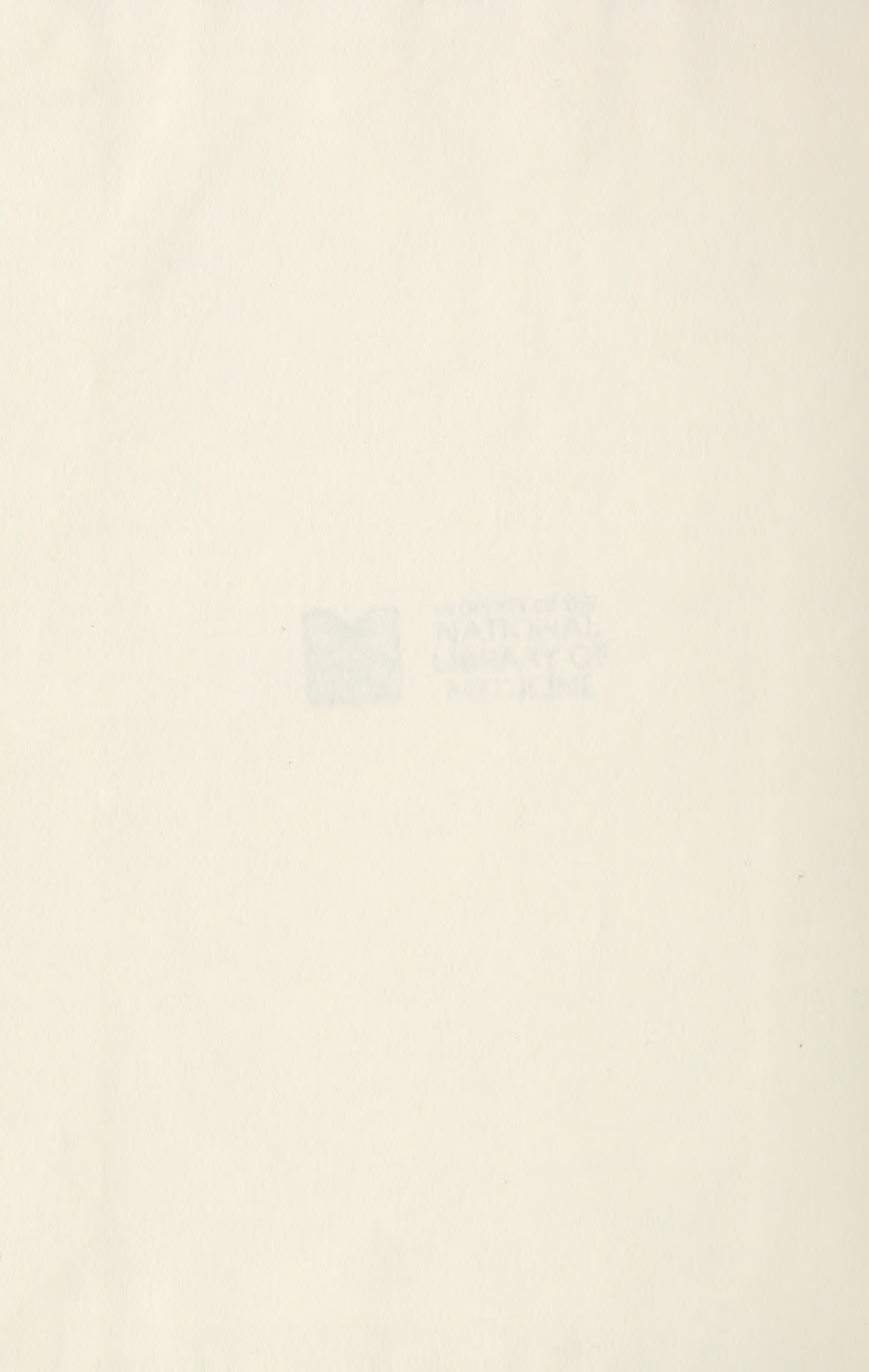






FIAT REPORT NO. 1100



# ADVANCES IN THE BYOCHEMISTRY OF THE CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIA GROUP WITH SPECIAL REFERENCE TO THE PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY OF DIPHTERIA IN MAN



OFFICE OF MILITARY GOVERNMENT FOR GERMANY (US)

FIELD INFORMATION AGENCY, TECHNICAL (US)

OFFICE OF MILITARY GOVERNMENT FOR GERMANY (US)

FIAT REPORT NO. 1100 | 26 JUNE 1947

# ADVANCES IN THE BYOCHEMISTRY OF THE CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIA GROUP WITH SPECIAL REFERENCE TO THE PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY OF DIPHTERIA IN MAN

BY

**GEORG TARNOWSKI**

BAD KOHLGRUB / Oberbayern

THIS MANUSCRIPT WAS RECEIVED AND REGISTERED ON 4 OCTOBER 1946

BY SCIENTIFIC BRANCH,

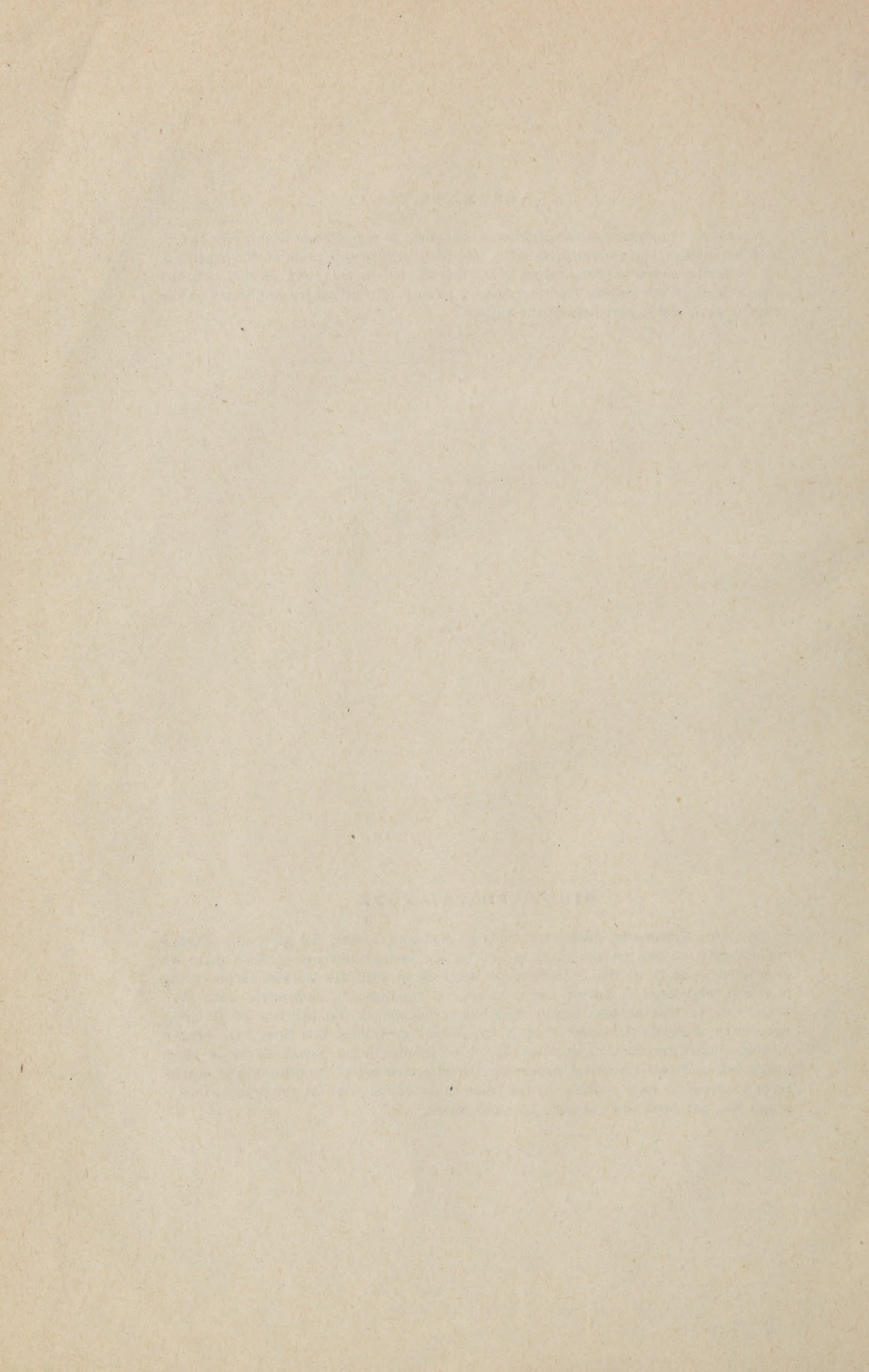
**FIELD INFORMATION AGENCY, TECHNICAL (US)**

## ABSTRACT.

A review is presented of the problem of chemical composition of diphtheria bacilli, their metabolism, their toxin-production, and the action of this toxin on the organism, with reference to the published work of the last 20 years in this field, as well as to the original work of the author. The reference material is critically discussed, based on the original work and experiences of the author.

## BIOGRAPHICAL NOTE.

Dr. Georg Tarnowski, during his study of medicine, carried out some unpublished experimental studies on the catalase and on the endogenous uric acid in man. He graduated as M. D. at the University of Belgrade in 1935. He worked as practicing physician and later as bacteriologist in several institutes in Jugoslavia until 1942. From 1942 to 1944 he was employed as bacteriologist at the Institute of Hygiene, University of Berlin (Director: Prof. K. W. Clauberg). During this time, four experimental studies on the fermentation activities of diphtheria bacilli (three of them published) and two statistical papers on the effectiveness of diphtheria and scarlet fever vaccination were written. At the same time the material for the present monograph was gathered and prepared for publication.



## Fortschritte der Biochemie der Corynediphtherie-Gruppen unter besonderer Berücksichtigung der pathologischen Physiologie der menschlichen Diphtherie

von

Georg Tarnowski.

### I. Einleitung.

Die Erkenntnisse auf dem Gebiet der Physiologie und Biochemie der Diphtheriebakterien wurden, wie übrigens auch bei anderen pathogenen Mikroorganismen, zum größten Teil bei der Verfolgung von drei theoretisch und praktisch bedeutsamen Problemen gewonnen. Man erstrebte einerseits die Auffindung solcher Merkmale der in Frage kommenden Keime, die ihre schnelle und sichere Abgrenzung von den verwandten Formen der Flora des Menschen und der Tiere ermöglichen sollen. Im Falle der Diphtheriebakterien sind es verschiedene Vertreter der Gattung Corynebacterium, die auf den menschlichen Schleimhäuten und Wundflächen vegetieren, ohne dabei an ihnen und im ganzen Organismus pathologische Veränderungen hervorzurufen.

Beim Studium dieses ersten — diagnostischen — Problems wurden viele Auskünfte über die Baustoffe, Fermente und Antigene der Diphtheriebakterien und anderer Corynebakterien gesammelt. Die Notwendigkeit der Züchtung dieser Bakterien in künstlichen Nährsubstraten führte zur eingehenden Beschäftigung mit ihren Nährstoffbedürfnissen und Wuchsstoffen. Von besonderer Wichtigkeit erwiesen sich dabei die Fragen der energieliefernden Vorgänge, die die Grundlage des Stoffwechsels jeder lebenden Zelle bilden und die zum Teil auch diagnostisch verwertet werden können (z. B. Telluritreduktion). Zu solchen fundamentalen physiologischen Leistungen der Bakterien gehört auch ihre Fähigkeit, verschiedene Kohlehydrate zu vergären. Auf Grund der festgestellten fermentativen Unterschiede wurden zuverlässige Differenzierungsmethoden ausgearbeitet.

Andererseits brachte die Erforschung des wasserlöslichen Diphtherietoxins uns dem Verständnis der biologischen und chemischen Eigenschaften dieses pathogenetisch wichtigen Wirkstoffs viel näher. Die erfolgreichen Versuche der Reinigung des Toxins von verschiedenen Ballaststoffen des Züchtungsmediums und der zerfallenen Bakterienzellen führten zur Erhaltung eines fast chemisch reinen Diphtherietoxins, das nunmehr mit Hilfe der Methoden der modernen Proteinchemie untersucht werden könnte. Die Tatsache, daß die toxischen und antigenen Partialfunktionen des Toxinmoleküls zu einem gewissen Grade voneinander unabhängig sind, ermöglichte die Entgiftung des nativen Toxins unter gleichzeitiger Aufrechterhaltung seiner immunisatorischen Qualitäten. Das Ergebnis dieser Entwicklung war die Herstellung von höchstwirksamen und fast reaktionslosen Diphtherie-Schutzstoffen. Auch hierbei wurden zahlreiche Kenntnisse über die chemische Natur des Toxinteilchens, das zweifellos zur Gruppe der Proteine mit einem ziemlich hohen Teilchengewicht gehört, gesammelt.

Endlich beim Studium des dritten Fragenkreises — der kausalen Genese der Störungen im Stoffwechsel und Funktionen einzelner Organe und ihrer Systeme, die bei der diphtherischen Intoxikation von Menschen und Tieren auftreten, — näherte man sich dem schwierigsten und interessantesten Knotenpunkt der gesamten Diphtherieforschung. Im Laufe dieser Untersuchungen, die anfänglich noch vollkommen durch die Methodik und Begriffe der klassischen pathologischen Anatomie und Histophysiologie

beherrscht wurden, drang man mit der Zeit immer mehr zur Erschließung der biochemischen Probleme, insbesondere aber in das Gebiet der submikroskopischen Morphologie der Zellbestandteile und der interzellularen Substanzen. Die Fragen der Kapillarenpermeabilität, der Wirkung des in den Körpersäften gelösten Toxins auf Myokard, Nervengewebe, Nebennieren und andere endokrine Organe erhielten eine neue Beleuchtung. Störungen im Stoffwechsel von Elektrolyten, N-Körper, Kohlehydrate, Schwermetalle, Vitamine, körpereigener Wirkstoffe (Adrenalin, Glutathion, Ascorbinsäure, Corticosteron) wurden am Krankenbett und im Tierexperiment studiert.

Aber hinter allen diesen Teilfragen steht auch heute noch das ungelöste Problem der Hierarchie und Korrelation aller dieser Störungen. Auf welche Substrate und in welchen Geweben greift das im Blut kreisende Diphtherietoxin zuerst an? Von welcher Art ist dieser Angriff? Kann er auf irgendwelche jetzt bekannten fermentativen oder anderen Mechanismen zurückgeführt werden? Welche Rolle kommt dabei den einzelnen, bisher andeutungsweise erkannten Wirkgruppen des Toxinteilchens (Amino-, Guanidino-, Tyrosino-Gruppen) zu? Wie sind diese Prozesse miteinander verknüpft und in welcher Reihenfolge? Ein ziemlich reiches Tatsachenmaterial liegt für die Beantwortung einiger dieser Fragen vor.

Wir versuchten in unserem Bericht dieses Material zusammenzutragen, um die zukünftige theoretische und experimentelle Forschung auf diesem Gebiet der Menschenpathologie zu erleichtern. Wir ließen dabei bewußt das enorme Gebiet der immunbiologischen Fragestellungen bei Diphtherie, mit wenigen Ausnahmen, praktisch unberührt. Es gibt doch in der Weltliteratur mehrere umfangreiche und moderne Darstellungen dieser Fragen von berufensten Fachleuten. Deshalb beschränkten wir uns auf die Erörterung von Problemen der Biologie und Biochemie der Diphtheriebakterien und verwandter Corynebakterien sowie der pathologischen Physiologie oder vielmehr der Pharmakodynamik der diphterischen Intoxikation bei Menschen und Tieren.

## II. Baustoffe und Wirkstoffe.

### 1. Allgemeines und N-haltige Körper.

Die chemische Zusammensetzung der Bakterienleiber der Diphtheriebakterien ist bisher nur von wenigen Autoren bearbeitet. Die gewonnenen Ergebnisse sind noch sehr fragmentarisch und können nur ein unvollkommenes Bild über die Beteiligung einzelner chemischer Körper an dem Aufbau der Di-Bakterienzellen geben.

Noch 1892 haben **S. v. Dzierskowki** und **Rekowski** (1) in trockenen Di-Bakterien das Vorhandensein von:

| | |
|---|---|
| Ätherlöslichen Substanzen . . . . . . | 1,62 % |
| Kohlehydraten . . . . . . . . . | 28,00 % |
| Asche . . . . . . . . . . . | 4,57 % |

festgestellt.

Den N-Gehalt bestimmten sie zu 11,20 %, den C-Gehalt zu 48,90 %. **M. Nikolle** und **E. Alilaire** (3) fanden, daß die Diphtheriebakterien bis 84,50 % Wasser, ihre getrockneten Leiber bis 69,70 % Protein enthalten.

**S. Tamura** (5, 6) hydrolisierte die getrockneten Diphtheriebakterien mit 66 % $H_2SO_4$ und gewann nach einer Verdünnung des Hydrolysats mit Wasser (bis zum Gehalt von 5 % $H_2SO_4$) eine unlösliche und eine lösliche Fraktion.

Aus der Lösung konnte er die l-Arabinose als Benzylphenylhydrazon isolieren. Im unlöslichen eiweißartigen Teil wurden nach weiterer Säurehydrolyse folgende Aminosäuren gefunden: Valin, Leuzin, Isoleuzin, Tyrosin, Prolin, Lysin, Histidin und Arginin.

In der neueren Zeit hat **J. Hirsch** (2) mit größeren Mengen (2—3 gr. Bakterientrockenmasse pro Versuch) sorgfältig mit Kochsalzlösung gewaschenen und getrockneten Diphtheriebakterien folgende interessante Werte erhalten:

N—ca. 10,95 %
P— 0,654—0,959 %
Lipoide — 3,18—3,99 % — (braunrotes toluollösliches Fett).

Aus den getrockneten Bakterien konnte er bei Extraktion mit Wasser bzw. Kochsalzlösung bis ca. 20 % des Gesamt-N in die Lösung bringen. Bemerkenswert ist dabei, daß aus frischen und feuchten Bakterien keine nennenswerten N-Mengen extrahiert werden könnten.

Weiterhin wurden nach vollständiger Hydrolyse der Bakterienzellen mit HCl die verschiedenen N-Fraktionen nach der Methode von **van Slyke** bestimmt. Wir zitieren die gewonnenen Resultate auf Grund der Tabelle 2 der genannten Arbeit von **Hirsch** (l. c., S. 666):

TABELLE I

| Fraktionen | J, Hirsch | S. Tamura |
|---|---|---|
| $NH_3$-N | 11,55 — 13,05 % | — |
| Humin-N | 1,01 — 2,29 % | 24,75 % |
| Hexonbasen-N | 32,24 — 35,00 % | 16,89 % |
| Hexonbasen-$NH_2$-N | 16,65 — 17,14 % | — |
| Arginin-N | 15,45 — 17,16 % | 10,46 % |
| Histidin-N | 5,32 — 7,46 % | 1,03 % |
| Zystin-N | 1,26 — 2,10 % | — |
| Lysin-N | 9,09 — 10,10 % | 4,93 % |
| N des Filtrats nach der Hexonbasenfällung | 53,04 — 55,39 % | 54,62 % |
| Sein Amino-N | 44,80 — 47,41 % | — |
| Sein Nicht-Amino-N | 8,30 — 7,97 % | — |
| N in unbekannter Form | — | 3,76 % |

Man ersieht aus dieser Zusammenstellung, daß die Diphtheriebakterienproteine fast bis zu 1/3 aus basischen Aminosäuren bestehen. Besonders fällt der Reichtum an Arginin auf, der fast 1/6 des Gesamt-Protein-N darstellt. Nachdem wir aus neueren Arbeiten hauptsächlich von **Eaton** und **Pappenheimer** einen Hinweis auf die große Rolle der Aminofunktionen, besonders aber der guandinartigen Strukturen, bei dem Zustandekommen der Toxizität des Diphtheriegifts erhalten haben, erscheint uns dieser ausgesprochene Argininreichtum der Diphtheriebakterienproteine sehr bedeutsam.

NB. Bei **S. Tamura** fällt ein sehr starker Humin-N-Gehalt auf, der wahrscheinlich auf eine zu energische Säurebehandlung der Bakterienzellen zurückzuführen ist.

**Soehring** (4) hat (in Anlehnung an ein von ihm für den Fall von Colibakterien ausgearbeitetes Verfahren) die einem serumhaltigen Nährmedium gezüchteten Diphtheriebakterien mit Kochsalzlösung gewaschen und die gewaschenen Bakterienleiber im Vakuum getrocknet. Nach der Extraktion der trockenen Bakterienmasse mit Wasser bekam er eine alkalische Proteinlösung, die 0.05—0.2 % Eiweiß mit 12.5 % N enthielt. Keine reduzierenden Zucker konnten im erhaltenen Präparat, auch nach der erfolgten HCl-Hydrolyse, nachgewiesen werden. Nach der Reinigung des Präparats durch Elektrodialyse erhielt man das Bakterienprotein in kleinen gelben bis braunen Plättchen; 0.1—1.0 ccm einer 0.1 %igen Aufschwemmung rief bei Meerschweinchen keine lokale oder allgemeine Toxinreaktion hervor. Das Protein wird für das reine Diphtheriebakterien-Eiweiß gehalten.

?. **Lipoide.**

Nach den ersten älteren Arbeiten von **H. Aronson** (7) und **S. Tamura** (loc. cit.) wurde die Frage der Lipoide der Diphtheriebakterien längere Zeit in der Literatur nicht behandelt.

Erst 1930 untersuchte **H. von Behring** (8) die auf sterinfreiem Peptonagar gezüchteten Diphtheriekulturen und fand dabei, daß sie keine Spuren von Sterinen enthalten.

**E. Chargaff** (11, 12) isolierte aus größeren Mengen (fast 300 gr) getrockneter Diphtheriebakterien eine Reihe von Lipoiden und gab ihre Verteilung (verglichen mit der der Menschentuberkelbakterien) folgendermaßen an:

| | Diphtherie-bakterien | Tuberkel-bakterien |
|---|---|---|
| Azetonlösliches Fett | 3,97 % | 6,20 % |
| Azetonschwerlösliches Fett | 0,25 % | — |
| Azetonunlösliche Phosphatide | 0,41 % | 6,54 % |
| Wachs | 0,27 % | 11,03 % |
| Summe | 4,90 % | 23,77 % |
| Polysaccharid | 0,08 % | 0,87 % |
| Übrige Substanzen des Bakterientrockenrückstandes | 95,00 % | 75,01 % |

**Das Fett,** von dem 25 gr zur Analyse vorlagen, enthält kein Glyzerin; es ist kein echtes Glyzerid. Wie auch im Falle der Tuberkelbakterien wird die Hauptmenge des Fetts aus den esterartigen Verbindungen von Fettsäuren mit Polysacchariden gebildet. Außerdem enthielt es eine große Menge freier Fettsäuren, die in den Bakterienleibern vorliegen, nicht aber erst bei ihrer Aufarbeitung durch Hydrolyse entstehen. Die Natur des mit den Fettsäuren veresterten Körpers (Polysaccharid?) blieb ungeklärt.

An Fettsäuren wurden gefunden: a) **Palmitinsäure** — etwa $^1/_3$ der gesamten Fettsäuren; b) **Palmitolein-** oder **Zoomarinsäure** [Hexadecen- (9) säure], $CH_3 . (CH_2)_5 . CH = CH . (CH_2)_7 . COOH$, die dadurch bemerkenswert ist, daß sie sonst nur in einigen Fischfetten und Tranen, in Pflanzen aber überhaupt nicht vorkommt; c) eine ungesättigte Säure von einer Bruttoformel $C_{14}H_{26}O_2$; d) ein Gemisch aus hochmolekularen ungesättigten Säuren.

Darunter steht gewichtsmäßig an erster Stelle die sog. **Diphtheriensäure** mit einem Molekulargewicht = 520, einer Bruttoformel von etwa

$C_{35}H_{68}O_2$, Schmelztemperatur = 35—36 °, Siedepunkt = 260 °, $[\alpha]_D^{20°} = -2,6°$

und einer Doppelbindung. Diese eigenartige Säure enthält ebenso wie die anderen ungesättigten Fettsäuren der Diphtheriebakertien keine normale C-Kette.

**Das Phosphatid,** von dem nur 1 gr untersucht wurde, zerfiel bei Hydrolyse mit verdünnten Säuren in Aldohexosen, Fettsäuren (vorwiegend Palmitinsäure und höher ungesättigte flüchtige Säuren) und in eine hochmolekulare, in heißem Alkohol und Äther schwer lösliche Substanz — **Corynin** ($C_{50}H_{100}O_4$?). Sie hat einen Schmelzpunkt = 70—71 °, einen Siedepunkt von ca. 220 °. Corynin ist von saurem Charakter, hat eine Carboxyl- und zwei Hydroxylgruppen, besitzt drei aktive H-Atome und läßt sich azetylieren.

**Das Unverseifbare** enthält, wie früher schon hervorgehoben, keine Sterine, ist intensiv rotbraun gefärbt, liefert aber bei einer chromatographischen Analyse keine deutlichen farbigen Adsorptionsbänder.

**H. Cassagne** (10) fand, daß der Gehalt an azetonlöslichen Lipoiden mit dem Alter der Diphtheriekulturen zunimmt. Während er in einer nur vier Tage alten Kultur 4,82 % des Bakterientrockengewichts ausmachte, stieg er am 14. Tage bis zu 7,90 % an.

In ihren Untersuchungen extrahierten **M. Macheboeuf** und **H. Cassagne** (17) die Diphtheriebakterien mit verschiedenen Lösungsmitteln (Wasser, Methanol, Äthanol, Äther). Einige Fraktionen, besonders die methylalkoholischen, erwiesen sich dabei als

phosphorreich. Sie hatten auch die stärkste Affinität zum Tuberkulosenserum, reagierten aber nicht mit dem Serum von Kaninchen, die mit Diphtheriebakterien immunisiert waren.

Der wasserlösliche Anteil der Methanolfraktionen enthielt viel **Na-Palmitat** (die trockenen Bakterien enthalten bis 0,6 % Palmitinsäure). Die anderen Bestandteile dieser Fraktion sind im angesäuerten Äther leicht löslich.

**Mandelbaum** (18) hat gefunden, daß die echten Diphtheriebakterien auf Löfflerserumplatten gezüchtet, die aus einem an gelbem Farbstoff (Karotine oder Flavine) besonders reichen Serum von Weidekühen hergestellt wurden, in ihren Kolonien den betreffenden Farbstoff aufstapeln können. Die Kolonien fielen durch ihre gelbe Farbe auf und ließen sich dadurch von weiß bleibenden Kolonien der Pseudodiphtheriebakterien makroskopisch unterscheiden. Die Bakterienleiber von einigen Stämmen der gelbwachsenden Diphtheriebakterien zeigten in manchen Fällen das Auftreten von eigenartigen lichtbrechenden Gebilden, die der Verfasser als **Myelingebilde** betrachtete. Außerdem betonte er das Vorhandensein von Cholesterinkristallen in solchen Kolonien.

**Mandelbau** versuchte diese myelinreichen Stämme ätiologisch mit Scharlachfällen zu verbinden und sie als Scharlacherreger zu bezeichnen. Trotz einer eingehenden Diskussion, die unmittelbar nach dieser am 12. XII. 1927 in einer Sitzung der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft gemachten Mitteilung stattfand, wurden diese Beobachtungen nicht weiter verfolgt und gerieten in Vergessenheit.

Die Frage der serologischen Bedeutung einiger Lipoidfraktionen der Diphtheriebakterien sowie Diphtherietoxinlösungen haben zuerst **A. Boquet** und **L. Nègre** (9) bearbeitet, die über eine weitgehende Verwandtschaft zwischen den Diphtherie- und Tuberkelbakterienlipoiden berichteten. **J. Freund** (13) extrahierte die gewaschenen und getrockneten Diphtheriebakterien erst mit Aceton, dann mit Alkohol. Die erhaltenen Extrakte ergaben eine Komplementbindung nur mit antibakteriellen Diphtheriesera. Antitoxische Diphtherie-, Tuberkulose- sowie Streptothrix-Immunsera erwiesen sich als wirkungslos. Das Diphtherieantigen entfernte aus einem Diphtherieserum nicht nur die homologen Antikörper, sondern auch solche die gegen intakte Diphtheriebakterienkörper gerichtet sind.

Das Komplementbindungstiter ging bis 1 : 160, wenn die Diphtherie-Immunsera mit Diphtherie-Bakteriensuspensionen oder mit einem Alkoholextrakt versetzt wurden; Titer bis 1 : 10 — 1 : 30 mit Tuberkulose-Bakteriensuspensionen oder Alkoholextrakten; gar keine Komplementbindung wurde bei Verwendung von Streptothrix-Suspensionen oder Extrakte sowie des Diphtherietoxins beobachtet. **E. Krah** und **E. Witebsky** (15, 16, 20) konnten nach aktiver Immunisierung von Kaninchen mit abgetöteten Diphtherie-, Pseudodiphtherie- und Tuberkelbakterien die Anwesenheit von sog. „Lipoidantikörpern" in den erhaltenen Immunseren nachweisen, die mit den alkoholischen Extrakten aus Bakterienzellen aller drei Bakterienarten Komplementbindung ergaben. Dabei hat sich herausgestellt, daß die erhaltenen Lipoidantikörper in erster Linie eine allen drei Bakterienarten gemeinsame Quote enthalten, außerdem aber noch eine spezifische gegen Diphtheriebakterien gerichtete Komponente, nicht aber eine gegen Pseudodiphtherie-, noch eine gegen Tuberkelbakterienlipoide.

Ein ähnliches Verhalten wurde auch in den Diphtherie-Rekonvalenszentenseren, sowie in den therapeutischen Heilseren beobachtet. Auch aus dem Diphtherietoxin erhielt man durch Alkoholextraktion Auszüge, die mit Diphtherieheilserum spezifische Komplementbindung ergaben. Dabei verhielten sich die einzelnen Toxinproben unterschiedlich, was wahrscheinlich auf ihren verschiedenen Gehalt an Zellipoiden und anderen Zelleibsubstanzen beruht.

Diese alkoholischen Extrakte aus dem Diphtherietoxin erwiesen sich bei der aktiven Immunisierung von Kaninchen als **vollantigen**; das steht im Gegensatz zu dem

Verhalten der alkoholischen Organextrakte, die bekanntlich gewöhnlich nur als Haptene, nicht aber als Vollantigene wirken können. Die mit diesen Extrakten erhaltenen Immunsera reagierten außer mit den zu ihrer Herstellung verwendeten Diphtherietoxinen auch noch mit den Diphtheriebakterien selbst, nicht aber aber mit Tuberkelbakterien.

**E. Nußbaum** (19) erweiterte diese Ergebnisse auch auf die mit Alkohol, Äther, sowie auch mit Toluol hergestellten Extrakte aus Diphtheriebakterien in der Absicht, dadurch ein biologisches Differenzierungsverfahren für einzelne von **E. Chargaff** isolierte Lipoidfraktionen der Diphtheriebakterien zu schaffen. Er fand, daß alle diese Extrakte mit den antitoxischen Diphtheriesera Komplementbindung ergeben. Solche Antikörper traten auch im Serum der Tiere auf, die mit Vollbakterien bzw. mit Alkohol oder Toluol „entfetteten" Diphtheriebakterien immunisiert worden sind. Die beobachteten Komplementbindungsreaktionen waren bei der Verwendung von Alkohol und Alkohol + Äther-Extrakten wesentlich stärker als mit Toluolextrakten. „Die Deutung der Befunde hinsichtlich des chemischen Charakters der wirksamen Antigene sowie hinsichtlich der unbedingten Spezifität der Reaktion ist — auf Grund des vorliegenden Materials — keineswegs möglich." (**E. Nußbaum**, loc. cit. 320.) Es wurden Phenomena beobachtet, die die Möglichkeit der Beteiligung der Eiweißantigene, sowie unspezifischer kolloidaler Vorgänge offen lassen.

In neuester Zeit revidierte **L. Hoyle** (14) dieses ganze Problem im Lichte neuer Typenlehre. Es gelang ihm, in den Antiseren von Kaninchen, die mit C. diphtheriae Typ Gravis, Mitis und Intermedius, sowie C. hoffmannii immunisiert waren, durch Kreuzabsorptionsversuche mit alkoholischen Extrakten von diesen Keimen drei verschiedene Lipoidantikörper nachzuweisen. Das spezifische **h-Antigen** kommt nur in C. hoffmannii, das spezifische **d-Antigen** im Mitistyp und wahrscheinlich in geringen Mengen in den Gravis- und Intermedius-Typen vor, das **Gruppenantigen G** aber in großen Mengen im Typ Gravis, Intermedius und C. hoffmanni, im Mitistyp nur in geringeren Mengen vor. Das G-Antigen besteht wahrscheinlich aus mehreren Komponenten.

Im Serum der Mitis-Rekonvaleszenten wurden nur d-, in dem von Gravis- und Intermediuskranken gewöhnlich nur G-Antikörper gefunden.

### 3. Polysaccharide.

Die Bedeutung der verschiedenen pathogenen und saprophytischen Bakterienarten enthaltenen Polysaccharide und ihrer Verbindungen mit Lipoiden und Polypeptiden bzw. Proteinen als Vollantigene oder Haptener wurde im Laufe der letzten zwei Jahrzehnte an zahlreichen Mikroorganismen von verschiedenen Forschern eingehend untersucht. Der Name der Schulen von **Avery, Heidelberger, Goebel, Kendall** u. a. ist mit der Erforschung der Pneumokokkenkapsel — und zelleibpolysaccharide, eng verknüpft.

**Boivin** und **Mitarbeiter, Morgan** und **Mitarbeiter, Raistrick** und **Topley,** sowie andere Forscher untersuchten die „glyko-lipoiden" Vollantigene, die sie aus den verschiedenen Vertretern der Typhus-Paratyphus-Enteritis-, Coli- und Ruhrbakterien-Gruppe isolierten und nach gründlichen chemischen und immunologischem Studium einerseits mit ihren Endotoxinen, andererseits mit den O- und Vi-Antigenen identifizieren konnten. **Linton** und **Mitarbeiter** haben eine ähnliche Untersuchung für die Choleravibrionen durchgeführt. Eine allerdings schon etwas veraltete Darstellung dieses gesamten Forschungsgebietes bringt **E. Mikulaszek** (20). Bis zu jener Zeit war über die Polysaccharide der Diphtheriebakterien keine Arbeit erschienen. Auch nachher hat nur eine einzige Gruppe der chinesischen Forscher dieses Problem behandelt.

**S. C. Wang** und **T. Tung** (24) isolierten aus Diphtheriekulturen der Typen Gravis, Intermedius und Mitis ein Polysaccharid in einem ähnlichen Verfahren, wie es für die

Isolierung des Polysaccharids aus **B. rhinoscleromatis** angegeben ist. Dieses Polysaccharid gab eine positive Molisch-Reaktion noch in schwacher Lösung und wurde vom typ-homologen ebenso wie von den heterologen Antiseren präzipitiert. Das Polysaccharid absorbierte jedes der Typ-Antisera komplett. Aber auch das Polysaccharid der avirulenten Diphtheriekulturen konnte sämtliche Typsera absorbieren; ein mit einer avirulenten Kultur hergestelltes Antiserum präzipitierte dagegen die Diphtherie-Polysaccharide nicht.

In weiteren Untersuchungen gelang es den Verfassern (25) die fünf von ihnen untersuchten Diphtheriestämme in zwei serologisch verschiedene Gruppen aufzuteilen. Das Polysaccharid der Gruppe A (3 — Mitis und 1 — Intermedius) wurde für alle vier Stämme als serologisch identisch, aber vom Polysaccharid B, des einzigen untersuchten Gravisstammes, als verschieden gefunden.

Die Polysaccharide aus den Stämmen von C. xerosis (**Wang** und **Tung** (26)) erwiesen sich im Präzipitationsversuch serologisch als mit den Diphtheriepolysacchariden identisch, was als Stütze für die Auffassung von C. xerosis als „degenerierten Abkömmlingen der Diphtheriebakterien" benutzt wurde. Die Polysaccharide aus C. hoffmannii wurden aber von denen der Diphtheriebakterien als serologisch völlig verschieden gefunden.

Bei weiterer Vervollkommnung der Darstellung der Diphtheriezellantigene kamen die chinesischen Verfasser zum abgeänderten Verfahren (**Wang** und **Tung** (27, 28). Die eine Woche alten Kulturen vom Hottinger-Nährboden wurden abzentrifugiert, abwechselnd mit destilliertem Wasser und 95 % Alkohol gewaschen und dann mit einer Äther-Alkohol (ää)-Mischung zu einer dicken Suspension der Keime zubereitet. Nach fünftägigem Aufenthalt bei 37 °, bei häufigem Umschütteln, wurde die Suspension durch gewöhnliches Filterpapier filtriert. Aus dem Filtrat wurde durch Verdampfung und Reinigung mit Petroläther die **Lipoidfraktion** gewonnen. Aus dem gelben Filterrückstand, der in 95 % Alkohol schlecht, in Äther und anderen Fettlösungsmitteln leicht löslich war, gewann man durch weitere Behandlung eine Protein — eine Kohlehydrat — und eine andere Lipoidfraktion.

Lipoide und Kohlehydrate (29) erwiesen sich als gruppen-, das alkalilösliche Protein als typenspezifisch. Seine Typenspezifität ist thermolabil; das Protein geht beim Erhitzen auf 56 ° innerhalb 30 Minuten in ein nur gruppenspezifisches Protein über.

Weitere chemische und immunologische Studien über diese verschiedenen Zellantigene der Diphtheriebakterien, sowie die Nachprüfung der Befunde von **Wang** und **Tung** bleiben zur Zeit aus.

Erwähnenswert ist noch der Befund von **F. Ottensooser** (23), wonach in den meisten Diphtherietoxinen (und Toxoiden) eine größere Menge des A-Isohämagglutinogens (des Trägers des Blutkörperchenmerkmals A) gefunden wurde. Diese Substanz ist bekanntlich ein glukosaminhaltiges Polysaccharid. Sie ist aber kein Produkt des Bakterienstoffwechsels und gelangt in die Toxinlösungen mit dem Pepton, welches sehr reich an diesem Polysaccharid sein kann (besonders das Schweinemagenpepton). Nach den Befunden des Verfassers steht der Gehalt des Formoltoxoids an diesem Körper in keinem Zusammenhang mit der Stärke der Nebenreaktionen bei Verwendung des Toxoids zu Schutzimpfzwecken.

**Zusammenfassend** kann man den heutigen Stand unserer Kenntnisse über die Diphtheriebakterienantigene wie folgt formulieren:

Die Diphtheriebakterien besitzen gruppenspezifische Polysaccharide, typenspezifische alkalilösliche Proteine und gruppen- sowie typenspezifische Lipoide. Es bestehen gewisse Überscheidungen zwischen den Diphtherie- und Pseudodiphtheriepolysacchariden, sowie zwischen den Diphtherie-, Pseudodiphtherie- und Tuberkelbakterienlipoiden.

### 3a. Serologische Beziehungen der Corynebakterien.

Die beschriebenen Bestandteile der Zellen von Corynebakterien können als dasjenige chemische Substrat betrachtet werden, das den serologischen Reaktionen dieser Gruppe zugrundeliegt. Die Erforschung der Serologie der Corynebakterien war der Gegenstand vieler eingehender Untersuchungen. An dieser Stelle darf nur eine kurze Übersicht der bisher gewonnenen Ergebnisse gegeben werden.

#### I. Agglutination.

Die ältere Literatur über dieses Thema (bis 1916) ist in der Arbeit von **Langer** (48) enthalten, auf die wir in diesem Zusammenhang verweisen. Die erzielten Resultate waren ziemlich widerspruchsvoll. Die Herstellung von homogenen Diphtheriebakterien-Suspensionen ist nicht leicht und zwingt zur Anwendung verschiedener Kunstgriffe (Erhitzung der Suspensionen in NaCl-Lösung bei 50—60 °, Glyzerinzusatz, Schütteln, Verwendung besonderer Nährböden).

**v. Riemsdijk** (235) konnte mit Hilfe des polyvalenten Kaninchenserums (aus vier Diphtheriestämmen hergestellt) die Diphtheriebakterien agglutinatorisch scharf von den geprüften Pseudodiphtheriestämmen abtrennen. Die Agglutination der Diphtheriebakterien verläuft langsamer als z. B. bei Typhus; auch tritt sie erst in kleineren Serumverdünnungen (1/25—1/50) ein.

**Durand** (35) untersuchte 103 Diphtheriestämme mit Hilfe von je vier Kaninchen- bzw. Pferde-Immunsera. Von sieben Stämmen konnte er keine stabilen Suspensionen erhalten, 26 erwiesen sich als von keinem der verwendeten Sera agglutinierbar. Die 70 übrigen Stämme wurden nach ihrer Agglutination mit Pferdesera in vier Serotypen gruppiert: A (6 St.), B (23 St.), C (17 St.) und D (24 St.). 22 Stämme der D-Gruppe wurden auch von den C-Kaninchensera mitagglutiniert, nicht aber von den C-Pferdesera. Die C-Kaninchenagglutinine konnten aber nicht durch die D-Stämme erschöpfend absorbiert werden.

Von 54 mitgeprüften Pseudodiphtheriebakterien-Stämmen erwiesen sich 45 als von keinem Diphtherieserum agglutinierbar, neun ergaben keine stabile Suspension.

In einer weiteren Arbeit (36) dehnte **Durand** seine serologische Analyse mit ähnlichen Ergebnissen auf noch 255 Stämme aus.

**Havens** (41) gruppierte die von ihm geprüften virulenten Diphtheriestämme in zwei agglutinatorische Serotypen, die morphologisch nicht unterscheidbar waren. Auch die Toxine beider Typen waren nicht scharf voneinander zu differenzieren und besaßen gemeinsame Rezeptoren. Auch **Paxson** und **Redwitz** (58) kamen zu zwei Serotypen mit serologisch identischen Toxinen.

**Bell** (31) agglutinierte 130 Diphtheriestämme mit dem Park-Williams No. 8-Serum (Kaninchen). Mit einigen, von diesem Serum nicht agglutinierten Stämmen, hat er die stamm-spezifischen Sera hergestellt. Mit Hilfe von drei solcher Sera hat er 80 % aller Stämme in drei agglutinatorische Serotypen unterteilt (I—13%, II—6% und III—61%). Die saccharosespaltenden Diphtheroide wurden von keinem dieser Sera agglutiniert. Auch hier waren die Toxine aller geprüften Stämme serologisch identisch. **Hartley** (40) konnte die letzte Beobachtung an 12 weiteren Stämmen bestätigen, deren Toxine bis auf etwas verschiedenen Toxoidgehalt sich als identisch erwiesen haben.

**Smith** (67) stellte mit Hilfe der Kaninchen-Immunsera (Titer = 1 : 12.800) sieben agglutinatorische Serotypen bei 80 Diphtheriestämmen auf; einer davon umfaßte 68 Stämme, während einige nur je einen Stamm enthielten. Es wurden einige Kreuzreaktionen beobachtet, dabei aber keine Korrelation zur Morphologie oder Virulenz der Keime nachgewiesen. **Eagleton** und **Baxter** (37) benutzten die in 5 % Glyzerin-NaCl-Lösung während ½ Stunde bei 60 ° erhitzten und dadurch homogenisierten Diphtheriesuspensionen und konnten dabei 323 geprüfter Diphtheriestämme mit Hilfe von Kaninchensera in zehn Serotypen einteilen. Der größte Typ enthielt 145, der

kleinste sieben Stämme. Auch hier wurden Kreuzreaktionen nachgewiesen. **Powell** (60) hat festgestellt, daß die Agglutinationseigenschaften von ca. 300 Diphtheriestämmen, die in reinen Linien, ausgehend von den Einzelkulturen gezüchtet wurden, während der ganzen Dauer der fast zweijährigen Züchtung, bemerkenswert beständig blieben.

**Scott** (65) hat die Agglutination von 265 Diphtheriestämmen mit Hilfe von Kaninchensera geprüft und dabei acht Serotypen aufgestellt. Außerdem wurde eine Anzahl von Stämmen, die vorwiegend bei den Bazillenträgern isoliert wurden, als zu einem besonderen Typ angehörig gefunden. Die atypischen Diphtheriestämme sind von den „echten" Diphtheriestämmen agglutinatorisch unterscheidbar. Es wird vermutet, daß einzelne Diphtherieepidemien durch serologisch verschiedene Typen hervorgerufen werden können.

**Doyle** (34) untersuchte mit einem polyvalenten Diphtherieserum 286 morphologisch gesicherte diphtheriebakterienhaltige Mischkulturen und konnte bei 74.5 % ein befriedigendes Ergebnis erzielen. 42 virulente Diphtheriestämme wurden aber von solchem Serum nicht erfaßt.

**Bailey** (30) gewann Meerschweinchensera, die gegen avirulente Diphtheriebakterien, C. hoffmannii und xeosis gerichtet waren. Keines dieser Sera vermochte die virulenten Diphtheriebakterien zu agglutinieren. Die Sera gegen avirulente Diphtheriebakterien haben mehr oder weniger starke Kreuzreaktionen aufgewiesen, während die Hoffmann- und Xerosis-Sera sich als streng art-spezifisch erwiesen haben. Weder avirulente Diphtherie- noch Hoffmann- oder Xerosis-Bakterien sind imstande, Meerschweinchen gegen virulente Diphtheriebakterien aktiv zu immunisieren (siehe auch **Rosenau** und **Bailey** (63).

**Kliewe** (217) hat die Diphtheriebakterien nach ihrem kulturell-biochemischen Verhalten in einen Volltyp und fünf Minus- bzw. Minus-Plusvarianten eingeteilt. Er agglutinierte die Vertreter aller dieser Gruppen, sowie neun Pseudodiphtheriestämme mit je drei Kaninchensera, die mit a) einem Volltypstamm (Gruppe Ia), b) einem Diphtheroid aus einer Pferdewunde und c) einem Pseudodiphtheriestamm hergestellt wurden. Aus den Versuchsergebnissen ersieht man, daß der Volltyp sowie eine Minus-Plusvariante ein Serotyp bilden, der mit dem Diphtherieserum fast bis zu seinem Titer agglutiniert wird. Die Stämme von drei weiteren Diphtherievarianten bilden den zweiten Serotyp mit einem niedrigeren Agglutinationstiter. Endlich, die Stämme der Varianten Ib und If konnten vom Diphtherieserum nicht agglutiniert werden.

Aus dem gesamten zahlenmäßig beschränkten Material darf man nach der Meinung des Verfassers keinen allgemeingültigen Schluß über die Serotypen bei den Diphtheriebakterien ziehen. Es könnten an einem größeren Material weitere Serotypen gefunden werden, was andere Autoren bestätigen könnten.

Die Pseudodiphtheriestämme wurden nur von den homologen Sera agglutiniert.

Auch **Moehrke** (50) fand, daß ein mit fünf Pseudodiphtheriestämmen hergestelltes Kaninchenserum die 12 geprüften Pseudodiphtheriestämme gut agglutinierte, während acht avirulente, aber sonst typische Diphtheriestämme unbeeinflußt blieben.

**Neill** und **Mitarbeiter** (52) konnten in Sera der mit verschiedenen Diphtherie- und Pseudodiphtheriestämmen immunisierten Laboratoriumstiere gruppenspezifische Agglutinine, die von Antitoxin verschieden sind, nachweisen.

Nach der Entdeckung von Diphtherietypen durch **Anderson** u. a. wurden mehrere Untersuchungen über die Frage ihres serologischen Verhaltens angestellt.

**Ewing** (39) konnte bei 106 Gravisstämmen das Vorkommen von fünf Serotypen: A, B, C, D und X nachweisen. Die Serotypen A, B und D stimmen in allen Eigenschaften mit dem klassischen Gravis überein; Serotyp C weist Abweichungen in der Kolonieform auf, während Typ X kulturell deutlich verschieden ist, ein orangefarbenes Pigment zu bilden vermag und keine Tierpathogenität besitzt. Die Typen A, B und C stammten aus England (drei B-Stämme aus Berlin); zwei D-Stämme waren in Khartum (Brit. Sudan) isoliert. 35 Mitis- und 15 Intermedius-Stämme wurden als serologisch vom Gravis verschieden und ihrerseits in mehrere Serotypen gespalten gefunden.

**Murray** (51) unterteilte mit Hilfe der Absorption von Agglutininen die 78 Gravisstämme in 3, 102 Intermedius in vier und 70 Mitis in vier Serotypen; außerdem wurden die nicht typisierbaren Stämme gefunden; zwei Mitisstämme reagierten nur mit ihren homologen Sera. Kreuzreaktionen zwischen einzelnen Typen wurden nicht beobachtet.

**Robinson** und **Peeney** (62) unterscheiden bei 739 Gravisstämmen aus verschiedenen Ländern fünf Serotypen, von denen vier mit den Serotypen von **Ewing** übereinstimmen. Type I und II sind klassische Gravis; III—V nähern sich in einigen Merkmalen dem Typ Mitis. Type I—III überwiegen bei schwereren Epidemien. I und III dominieren in England und Australien (Typ III wurde auch in Bratislawa-Tschechoslowakei gefunden); II ist kosmopolitisch verbreitet, IV vorwiegend aus Ägypten, V nur aus USA. Kreuzreaktionen zwischen einzelnen Gravis-Serotypen, sowie mit Intermedius und Mitis wurden beobachtet.

**Nishimoto** (53) hat als Antigen die durch ein 6—20stündiges Schütteln homogenisierten Suspensionen von 316 Diphtheriestämmen verwendet. Durch Agglutininabsorption gelang es ihm die geprüften Stämme in 13 Serotypen einzuteilen. Neun Stämme von Diphtheroiden aus Ozaenafällen stimmten agglutinatorisch mit echten Diphtheriebakterien überein; in Absorptionsversuchen konnte aber die serologische Verschiedenheit beider Gruppen erwiesen (54) werden. Die Diphtheroide wurden in drei Serotypen aufgeteilt, zwei davon als zu den Diphtherieserotypen X und XIII verwandt gefunden. In einer weiteren Arbeit (55) ist gezeigt, daß die Diphtherieantitoxine, die mit sieben von den gefundenen 13 Serotypen hergestellt waren, alle sieben Serotyp-Toxine gleich gut neutralisierten. Demnach sollen die Toxine aller sieben Serotypen als serologisch identisch betrachtet werden.

In China haben **Sia** und **Huang** (66) bei 92 Diphtheriestämmen sieben agglutinatorische Serotype durch Kreuzabsorption aufgestellt; drei davon wurden nur durch je einen Stamm vertreten.

### II. Komplementbindung.

Auch die Komplementbindung wurde zur Einteilung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien in Serotype herangezogen. In neuerer Zeit haben **Bull** und **McKee** (33) diese Reaktion bei fünf virulenten, drei avirulenten Diphtherie- und drei Pseudodiphtheriestämmen untersucht. Es wurde mit fallenden Serumdosen gearbeitet, die Komplementbindung erfolgte im Eisschrank über Nacht; es konnte keine scharfe serologische Differenzierung dieser Corynebakterien erzielt werden. **Stone** (69) fand, daß die Zahl der mit der Komplementbindungsreaktion feststellbaren Serotypen bei Diphtheriebakterien geringer als bei ihrer Agglutination ist. Die Absorption von Diphtherieagglutininen aus den Immunsera entfernt auch die Diphtherieambozeptoren.

Zu ganz ungünstigen Resultaten gelangten **Bessemanns, de Potter** und **Decker** (32). Als Antigene benutzten sie: erhitzte Diphtheriebakteriensuspensionen, Diphtherietoxine und -antitoxine. Eine eindeutige Komplementbindung mit diesen Antigenen konnte weder mit den Immun- noch mit den Normalsera von Meerschweinchen und Schweinen erzielt werden. Die Resultate mit Kaninchen-, Pferde-, Hammel-, Rinder- und Menschensera waren zu unbeständig und unspezifisch, um zur Identifizierung von Diphtheriebakterien und ihrer biologischen Produkte dienen zu können.

Nach der Aufstellung von Diphtherietypen haben **Menton, Cooper** und **Fussel** (49) 200 Diphtheriestämme auf ihr Verhalten bei der Komplementbindungsreaktion geprüft. Formalingetötete Agarkulturen haben dabei als Antigene gedient. Die Antigene aus Stämmen, die bei klinisch schwereren Fällen isoliert wurden, wurden wirksamer als diejenigen von den klinisch leichteren Fällen. Diese klinisch-serologische Gruppierung von Diphtheriestämmen stimmt aber nicht mit der kulturell-biochemischen Typisierung von **Anderson** überein.

An einem kleineren Material konnte **Stein** (68) das Vorhandensein von gemeinsamen Rezeptoren bei Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien feststellen.

### III. Serologische Individualität der Diphtherietoxine.

Es wurde schon mehrfach erwähnt, daß trotz der vorhandenen Unterschiede in der Agglutionogenstruktur bei verschiedenen Serotypen der Diphtheriebakterien ihre Toxine sich immer als serologisch identisch erwiesen haben.

**Kolle** und **Schloßberger** (44, 45) haben festgestellt, daß das mit einem Diphtherietoxin gewonnene Antitoxin durch heterologe Diphtherietoxine in gleichen Verhältnissen wie durch das homologe Toxin gebunden wird. Die Wirksamkeit eines mit lebenden Diphtheriebakterien gewonnenen antibakteriellen Serums ist nicht größer als die eines rein antitoxischen und verläuft parallel zu seinem Antitoxingehalt. Solche antibakteriellen Sera neutralisieren auch die Giftigkeit von heterologen Kulturen und Toxinen.

Weiterhin (42, 43, 46) fanden sie, daß das Diphtherieantitoxin auch gegenüber den in vitro gewonnenen „Toluolgiften" der Diphtheriebakterien wirksam ist. Somit erweisen sich die Reagenzglastoxine als mit den im Tierkörper wirksamen Diphtherietoxinen serologisch identisch.

Monovalente Antitoxine können in Bindungsversuchen verschiedene Dlm verschiedener Diphtherietoxine neutralisieren — verschiedene Avidität. Aber dieses Verhältnis der neutralisierten Dlm-Zahl bleibt bei der Verwendung von homologen und heterologen Antitoxinen unverändert (**Kolle, Joseph** und **Schloßberger** (47)).

**H. Schmidt** (64) betonte, daß die mit den agglutinierenden Diphtheriesera in einer Diphtherietoxin-Bouillon zu erzielende Flockung von der Toxin + Antitoxin-Reaktion unabhängig ist. Das folgt daraus, daß: 1. der Zusatz von agglutinierenden Diphtheriesera zu derselben Toxinbouillon nach dem Ablauf der Toxin + Antitoxin-Reaktion eine neue Flockung hervorruft; 2. daß nach der vorherigen Ausflockung mit agglutinierendem Serum der Flockungswert der Toxinbouillon gegenüber dem Diphtherieantitoxin unverändert bleibt.

**Okell** und **Parish** (56) konnten 819 virulenter Diphtheriestämme mit demselben einzigen monovalenten Diphtherieantitoxin neutralisieren.

**Povitzky, Eisner** und **Jackson** (59) haben nachgewiesen, daß das Antitoxin Park-Williams 8 in vitro und in vivo die von verschiedenen Diphtheriestämmen gebildeten Toxine Einheit für Einheit neutralisiert, gleich ob sie von schweren oder leichten Diphtheriefällen gewonnen sind. Der Typ Gravis ist insofern virulenter als Mitis, als eine kleinere Bakterienzahl davon Meerschweinchen zu töten vermag, wahrscheinlich einer größeren Invasionskraft und einer schnelleren Toxinproduktion in vivo zufolge. Diese Ergebnisse sind von **Etris** (38) ergänzt, wonach die von dem Antitoxin Park-Williams 8 neutralisierbaren Gravis-Stämme sich folgendermaßen geographisch verteilen: Berlin 100 %, Leeds 75—90 %, New-York 68—81 % und London 62—75 % der geprüften Gravisstämme. Dabei entfaltet das Park-Williams 8-Antitoxin eine Schutzwirkung gegenüber einer Gravisinfektion bei Meerschweinchen.

**Curt Tarnowski** (70) hat den Stamm Park-Williams 8 als einen typischen Mitisstamm serologisch identifiziert. Beide Stämme lassen sich durch ihre Sera kreuzweise agglutinieren, nicht aber durch Sera anderer Diphtherietypen. Park-Williams 8-Serum übt eine deutliche Heilwirkung auf Infektionen mit allen drei Typen aus. Ebenso schützt ein Park-Willams 8-Anatoxin Meerschweinchen gegen Infektionen mit allen drei Typen.

**Ugo** (71) überprüfte vier verschiedene Diphtherietoxine (zwei aus Milano, eins aus Siena und eins aus Frankfurt a. M.) mit 12 Handelssera. Es wurden immer die gleichen Titerwerte gegen alle vier Toxine bei ein und demselben Serum gefunden. Der Verfasser glaubt deshalb, daß die in der Praxis vorkommenden Versager der Diphtherie-Serotherapie nicht auf serologische Verschiedenheiten einzelner Diphtherietoxine zurückgeführt werden sollen.

Dagegen fand **Revelli** (61), daß die im Laufe derselben Epidemie direkt von Kranken isolierten Diphtheriestämme durch ein bestimmtes antitoxisches Diphtherieserum

verschieden stark neutralisiert werden können. Die Toxine der die Bouillon alkalisierenden Stämme sind stärkere Antigene als die Gifte der bouillon-säuernden Stämme.

**Isiyama** (73) konnte zwischen den Toxinen von Stämmen, die von den schweren „toxischen" Diphtheriefällen gezüchtet wurden und den von den Diphtheriestämmen von „gewöhnlichen" Diphtherieerkrankungen keine qualitativen Unterschiede feststellen. Er berichtet aber über eine quantitativ stärkere Toxinbildung bei „toxischen" Stämmen.

Die Frage der Toxinverschiedenheit von einzelnen Diphtheriebakterientypen wurde auch von **Clauberg** untersucht (72). Er hat 46 Toxine von verschiedenen Diphtheriebakterientypen im Kaninchenversuch nach **Jensen** vergleichend geprüft. Die Beobachtungen sprechen zugunsten der Auffassung über die Verschiedenheit der Toxine einzelner Typen. Die Frage, ob es sich dabei um qualitativ differente Partialtoxine handelt, die für die betreffenden Typen verschieden sind, oder ob sich die verschiedenen Typtoxine durch ihre verschiedene Neigung zur Toxin-Toxoid-Umwandlung unterscheiden, ließ sich zur Zeit nicht beantworten.

### 4. Porphyrine und Flavine.

1931 isolierten **C. Coulter** und **F. Stone** (76) aus den Berkefeldkerzen-Filtraten der Diphtheriekulturen zwei Porphyrine. Das eine wurde aus dem Ätherextrakt des keimfreien Filtrats mit Hilfe von 5 % HCl gewonnen und als **Koproporphyrin** identifiziert. Das andere, das in HCl unlöslich ist und blauviolette Lösungen ergibt, zerfällt bei Hydrolyse in Koproporphyrin und eine Cu-Verbindung des Koproporphyrins. Dieser Gehalt der Diphtheriekulturen an komplexen Porphyrinen war ihrem Flockungsvermögen nach Vermischung mit antitoxischem Serum parallel. Die Verfasser vermuteten, daß in der Bakterienzelle das Toxin eine Art von kolloidalem Träger darstellt, der nach Verbindung mit dem Porphyrin, das Cytochrom ergibt. Diese Vermutung wurde durch Beobachtungen an verschiedenen Diphtheriestämmen erhärtet (**Coulter** und **Stone** (77)), wonach die Intensität der cytochromähnlichen Absorptionsbänder im toxinhaltigen Bouillonfiltrat parallel zu ihrem Toxingehalt verlief; in Kulturfiltraten von atoxischen Diphtheriestämmen und von Xerosebakterien fehlten diese Bänder.

Drei Jahre später bestätigten **C. Levaditi, Loiseau, Paič, Philippe** und **Haber** (83) diese Befunde insoweit als sie in der toxinhaltigen Bouillon ein Absorptionsband mit Maximum bei 4080 Å beobachteten, das in der sterilen oder mit atoxischen Diphtheriestämmen beimpften Bouillon nicht vorkam. Das **Ramonsche Anatoxin** absorbiert das Licht stärker, aber die Absorptionskurve ist der des Toxins fast analog. Dieses im äußersten Violett absorbierende Pigment muß in seinem Molekül Pyrrholgruppen enthalten. Beim Dialysieren durch die Kollodiummembran wird es teilweise durch diese absorbiert, zum Teil aber passiert es sie, und zwar rascher als Toxin (**M. Paič** und **M. Philippe** (87). Seine Anreicherung in Bouillon geht in der Vermehrungsphase der Keime der Toxinbildung parallel; wenn sich das Toxin abzuschwächen beginnt, verringert sich die Menge des Pigments nicht. Auch diese Autoren fanden, daß es sich dabei um Koproporphyrin handeln muß (**M. Paič** (85, 86)). Das Band bei 4080 Å gehört dem Koprohämochromogen, dessen stickstoffhaltige Base wahrscheinlich ein Purin ist. Bei der Extraktion mit angesäuertem Äther wird aus dem Hämochromogen das Eisen abgespalten. Dabei verschwindet nach dem HCl-Zusatz das Band 4080 Å in der Ätherphase; es tritt dagegen ein neues bei 3980 Å auf, das dem Cu-Komplex des Koproporphyrins und ein anderes bei 4035 Å, das dem Koproporphyrin I angehört.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch **A. Wadsworth, M. Crowe** und **L. Smith** (89), denen es gelang, das Pigment durch Ultrafiltration, teilweise durch Adsorption an Tierkohle, völlig vom Toxin zu trennen. Sie erhielten dasselbe Porphyrin auch in den toxinhaltigen Kulturen, vom synthetischen Nährboden. Alle toxischen Filtrate fluores-

zierten rot, die nicht toxischen grün. Der Porphyrinzusatz zu dem Nährboden beeinflußte weder das Wachstum noch die Toxinerzeugung der Diphtheriebakterien (**M. Wheeler** und **M. Crowe** (90)). Die Ätherextrakte aus der toxinhaltigen Peptonbrühe, mit 5,4 % HCl behandelt, erschienen bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht blauviolett mit einer hellroten Fluoreszenz, deren Spektrum drei deutliche Maxima bei 5951, 6160 und 6502 Å aufwies (**M. Crowe** (74)).

**F. Ottensooser, A. Krupski** und **F. Almasy** (84) bestätigten nochmals alle diese Befunde und fanden außerdem, daß das Spektrum des Pigments zwischen 3400 und 6400 Å mit dem des **Pyridinhämochromogens** weitgehend übereinstimmt. Der Hämochromogengehalt der geprüften Toxinfiltrate lag bei ca. 0,7 mg %. Reingewinnung, chemische und spektrographische Eigenschaften dieses Porphyrins wurden auch von **Dhéré** und **Mitarbeitern** (80, 81) beschrieben.

Die weitere chemische Analyse dieses Pigments führten **Coulter** und **Stone** selbst durch. Sie fanden in den alkalischen (1-n NaOH-) Extrakten aus Diphtheriebakterien ein **Hämochromogen**, das dem **Cytochrom c** nahesteht. Zu diesem Pigment und zu dem durch Extraktion mit Essigsäure und Äther gewonnenen Koproporphyrin gesellt sich noch ein $\alpha$-**Haematin** und **Lykopin** hinzu (**Coulter** und **Stone** (78)). Das Metall-Koproporphyrin, das auch im Alttuberkulin vorkommt, erwies sich bei weiterem Studium als **Zinkkoproporphyrin**, dessen oxydierte Form farblos ist (**Coulter** und **Stone** (79)). Seine Absorptionsbänder sind von denen des Fe- bzw. Cu-Koproporphyrins verschieden.

**Ch. Dhéré** und **A. Gourevitch** (82) wiesen in der diphtherietoxinhaltigen Bouillon 0,108—0,36 mg % **Flavin** nach, in der Bouillonkultur eines giftlosen Stammes 0,33 mg % und im Handelsanatoxin Spuren bis 0,08 mg % Flavin. **M. Crowe** (75) behandelte den Ätherauszug des Toxinultrafiltrats (aus einer synthetischen Nährlösung gewonnen) mit Chloroform zwecks Entfernung von Porphyrinen und anderen farbigen Substanzen. Nach der chromatographischen Adsorption des Chloroformextraktes erhielt man eine kanariengelbe fluoreszierende Substanz, die sich als ein noch nicht identifiziertes Flavin erwies.

**F. Urban** und **M. D. Eaton** (88) versuchten, alle diese gefundenen Pigmente in einen Zusammenhang miteinander zu bringen. Wenn sie zu einer Lösung des **Coulter**schen Diphtherieporphyrins das reduzierte Cytochrom c oder Laktoflavin zugaben und das Gemisch bei 37 ° und pH = 7,9 hielten, verschwanden die Bänder des Porphyrins bei 5740 und 5630 Å sofort. Auch ein anderes aus dem Diphtherietoxin isoliertes Porphyrin vom Typ des **Cytochroms b** wird in Anwesenheit des reduzierten Cytochroms c oxydiert. Das oxydierte Cytochrom c dagegen, das das dreiwertige Eisen enthält, vermag weder das **Coulter**sche Porphyrin noch das cytochromartige Porphyrin von **Eaton** zu verändern.

Diese sehr komplizierten und noch nicht restlos geklärten Verhältnisse deuten jedenfalls auf eine große Rolle beider Pigmentarten — Porphyrinen und Flavinen — hin, die wahrscheinlich die der Atmungsfermente der Diphtheriebakterien sein muß. Die von **Coulter** aufgestellte Behauptung vom Diphtherietoxin als einer Art von Apoferment der Diphtherie-Cytochrome ist sehr interessant, wurde aber bisher leider experimentell nicht weiter nachgeprüft.

### 5. Nukleinsäuren und Polkörnchen.

Die ersten Befunde über die Anwesenheit von Nukleinsäuren in den Diphtheriebakterien stammen von **Aronson** (loc. cit.), der die entfetteten Bakterien mit NaOH auszog, die Extrakte mit Essigsäure ausfällte, in dem erhaltenen Filtrat dann die Nukleinsäuren mit saurem Alkohol fällte. Damit erhielt er aus 10 gr Bakterien 0,22 gr einer Substanz, die phosphorhaltig war, Xanthinbasen enthielt und nach Hydrolyse mit HCl Pentosen ergab.

**A. Meyer** und **Grimme** (zit. nach **Schumacher**) (105) erkannten die Diphtheriepolkörnchen als mit dem in verschiedenen Bakterienarten vorkommenden **Volutin** identisch. **A. Meyer** fand, daß das Volutin in kaltem Wasser und Fettlösungsmitteln schwer, in heißem Wasser, Alkalien, Mineralsäuren und Hypochlorit leicht löslich ist; von Pepsin und Trypsin wird es nicht angegriffen. Auf Grund seiner mikrochemischen und färberischen Versuche schloß er auf die Nukleinsäurenatur des Volutins.

**J. Schumacher** (105) bestätigte mit Hilfe mehrerer färberischer Reaktionen (mit $OsCl_4$, $RuCl_4$, Methylenblau und Phosphin- bzw. Chinin-Entfärbung, sowie p-Aminophenol) diese Befunde von **Meyer.** Er vermutete außerdem, daß die Nukleinsäure der Diphtheriepolkörnchen in freiem Zustande in den Bakterien vorliegen muß. Ob daneben noch etwa zu Nukleoproteiden gebundene Nukleinsäuren in ihnen vorkommen, ließ er unentschieden. Die chemische Natur der Nukleinsäuren der Diphtheriebakterien wurde von **R. D. Coghill** und **D. Barnés** (92) untersucht. Sie gewannen aus trockener Diphtheriebakterienmasse 0,81 % Nukleinsäuren. Diese enthalten 14,39—14,73 % N; 7,82—8,28 % P; 9,32—9,50 % Guanins; 12,4—13,8 % Pentosen, außerdem Zytosin, Urazil und Thymin, aber kein Adenin.

Nach dem Ausfall der Feulgenschen Reaktion sind die Diphtheriebakterien-Nukleinsäuren bis zu 26—29 % nach dem Typ der Thymonukleinsäure aufgebaut. Der Hauptanteil ist aber vom Typ der Hefenukleinsäure.

**K. Pesch** (103) untersuchte den Einfluß der Zusammensetzung des Nährbodens auf die Bildung der Polkörnchen bei Diphtheriebakterien. Er fand im allgemeinen, daß, je nährstoffreicher der Nährboden, desto üppiger das Wachstum und geringer die Polkörnchenbildung wird, und umgekehrt. Besonders der Asciteszusatz übte eine stark hemmende Wirkung auf die Ausbildung der Polkörnchen aus bei gleichzeitiger Verstärkung des Wachstums der Bakterienzellen. **Pesch** unterstützte die Auffassung über die Nukleinsäurenatur der Polkörnchen besonders dadurch, daß auf den phosphat- bzw. nukleinsäurehaltigen (ascitesfreien) Nährböden die Entwicklung der Polkörnchen immer deutlich verstärkt war im Gegensatz zu den phosphorarmen Substraten.

**F. Lentze** (100) beobachtete eine beschleunigte und verstärkte Ausbildung der Polkörnchen bei Diphtheriebakterien, sowie ein verstärktes Wachstum der Keime selbst bei ihrer Züchtung in einer Atmosphäre, die $1.10^{-5}$ bis $1.10^{-4}$ Mol $H_2S$ pro Liter enthielt. Bei höheren Konzentrationen des Schwefelwasserstoffs trat eine Wachstumshemmung ein, und bei $2.10^{-4}$ Mol $H_2S$ pro Liter hörte das Wachstum überhaupt auf. Da ähnliche Polkörnchenvermehrung auch bei der anaeroben Züchtung der Diphtheriebakterien auftrat, und bei den streng aeroben Pseudodiphtheriebakterien weder $H_2S$ noch die Anaerobiose irgendwelche Änderungen in der Wachstumsstärke und Polkörnchenbildung hervorrufen konnten, vermutet **Lentze** in Analogie zu den Beobachtungen von **E. Negelein** (102) über die Atmungshemmung der Hefe unter Einwirkung von $H_2S$, daß auch im Falle der Diphtheriebakterien die beobachteten Effekte mit einer partiellen Atmungshemmung bzw. einer erzwungenen anaeroben Lebensweise in Zusammenhang stehen müssen.

**F. Lorentz** (101) überprüfte die wachstumsbegünstigende und die Polkörnchenbildung anregende Wirkung verschiedener chemischer Substanzen auf Diphtheriebakterien, die auf gewöhnlichem Fleischwasseragar mit entsprechenden Zusätzen gezüchtet wurden. Von den geprüften Salzen förderten $NaHCO_3$ und NaCl in den angewandten Konzentrationen das Wachstum, während die Polkörnchenbildung nicht wesentlich verändert wurde. Andere Salze (KCl, $CaCl_2$, $Na_2CO_3$, $CuSO_4$, $K_2TeO_3$) wirkten auf beide Funktionen abschwächend. Milch-, Fleisch- sowie Hühner-Proteine und das Witte-Pepton verstärkten das Wachstum; die Ausbildung der Polkörnchen wurde dabei umso stärker gehemmt, je üppiger das Wachstum war. Von Kohlehydraten und ihren Abbauprodukten förderten die Glukose, Laktose, sowie Milchsäure und Glyzerin das Wachstum und die Polkörnchenbildung (besonders Glyzerin) im 3 % Agar. Alle geprüften Lipoide (Stearin-, Na-oleat, Schmierseife, Cholesterin

und Lezithin) beschleunigten trotz des sehr üppigen Wachstums auch die Polkörnchenbildung bedeutend. Besonders stark wirkten Cholesterin und Lezithin.

Unter den schwefelhaltigen Körpern wurde im Gegensatz zu **Lentze, Braun u. a.** bei Anwendung von $H_2S$ und Schwefel eine Wachstumshemmung (bei gleichzeitiger Polkörnchenverstärkung) beobachtet. Zystin förderte das Wachstum **und** die Polkörnchenentwicklung. Interessant sind die Beobachtungen, daß auch der sog. „Nur-Agar", d. h. Agar ohne Fleischwasser- und Peptonzusatz, eine gewisse, wenn auch spärliche Entwicklung der Diphtheriebakterien mit stark ausgeprägten Polkörnchen ermöglicht.

Man kann zur Zeit nicht mit Sicherheit entscheiden, welche Rolle den Polkörnchen bei den Diphtheriebakterien und anderen sie ausbildenden Keimen zukommen kann — Reservestoffe, Kernäquivalente, Sporenrudimente usw.? Nachdem **T. Caspersson** (91) seine Mikromethodik zum Nachweis der minimalsten Mengen von Nukleinsäuren, sowie der verschiedenen Kern- und Zytoplasmaproteine mit Hilfe der Absorptionskurven im Ultraviolett ausgearbeitet hat, eröffnet sich damit eine neue Möglichkeit zur Aufklärung vieler mit der Chemie und Physiologie der Polkörnchen und anderer Nukleotiden bei Diphtheriebakterien zusammenhängender Fragen.

Es sei hier noch auf eine andere Körnelung hingewiesen, die in den Zelleibern der grampositiven Bakterien, darunter auch der Diphtheriebakterien (in geringerer Menge auch bei den „diphtheroiden", und sogar bei den „echten" Pseudodiphtheriebakterien — C. hoffmannii) vorkommt. Sie wurde von **H. Dold** (93—95) und seinen Schülern **Kraft** (99) und **Rabe** (104), sowie einigen anderen Verfassern in einer Reihe von Arbeiten beschrieben. Diese Körnchen sind nur färberisch, also rein morphologisch charakterisiert. Nach einer Karbolanilingrünfärbung mit nachfolgender Lugol-Behandlung, entfärben sich meistens die Zelleiber der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien bei nachfolgender Differenzierung mit einer Harnstoff-Alkohol-Lösung in einer Weise, daß nach einer Kontrastfärbung mit Bismarckbraun die entfärbten Zellen und Zellteile gelb, die harnstoff-alkoholresistenten aber grün erscheinen. Besonders charakteristisch für die jungen (bis sechs Tage alten) Diphtheriekulturen ist das ephemere, unregelmäßig periodische Auftreten der grünen „Dold-positiven" Körner inmitten des negativen gelben Körpers. Diese Körner entwickeln sich ganz regelmäßig und üppig mit dem Altern der Kulturen. Besonders günstig für ihre Ausbildung fand man das Einhalten des Temperaturoptimums bei 37 °, sowie des pH = 6,5—7,5.

Über die chemische Natur dieser Gebilde, sowie über ihre physiologische Bedeutung ist nichts bekannt. Von Interesse ist der Befund von **H. Dold** und **D. H. Du** (96, 97), daß in den alternden Diphtheriekulturen parallel mit der Anreicherung und Stabilisierung der „Dold-Körnchen" auch eine Vermehrung der Säure-Alkohol-resistenten Elemente (Färbung nach Ziehl-Neelsen) stattfindet.

Diese von **Dold** vorgeschlagene Einteilung der grampositiven Mikroben in „Dold-positive" und „Dold-negative", sowie das Auffinden der „Dold-Körnchen" in „Dold-negativen Zelleibern" ist offenbar eine rein morphologische Angelegenheit, die wahrscheinlich durch die lokalen Unregelmäßigkeiten in der Bindungsfestigkeit des Farbstoffs sowie durch die verschiedenen Permeabilitätsverhältnisse der Zellmembranen, nicht aber durch die Anwesenheit eines bestimmten chemischen Körpers bedingt ist.

Nach **R. J. Henke** (98) besteht das Wesen dieses Verhaltens von Diphtheriebakterien und anderer grampositiven Bakterien in ihrer verschieden stark ausgeprägten Bindungsfestigkeit dem Karbolanilingrün gegenüber (verstärkt durch die Nachbehandlung mit Lugollösung), gemessen an dem Grad der Entfärbbarkeit mit Äthanol. Der Zusatz von Harnstoff sei nicht unbedingt notwendig; die Schnelligkeit und Intensität der Entfärbung hängen nur von dem Wassergehalt des Alkohols ab, wobei die Alkoholkonzentration von 88 % und Entfärbungsdauer von fünf Minuten als optimal gefunden wurden. Nach dieser Zeit entfärbt sich nur ein Teil von Diphtheriebakterien, während der andere seine Farbe beibehält.

## III. Physiologische Grundleistungen.

### 1. Verwendungsstoffwechsel und Wuchsstoffe.

Die Erforschung der physiologischen Lebensäußerungen der Diphtheriebakterien kann nicht mit sicherem Erfolg auf den in der diagnostischen und industriellen (Toxinproduktion) Praxis verwendeten gewöhnlichen Nährböden betrieben werden. Diese Nährböden enthalten zu viele chemisch ungenügend definierte Substanzen, wie z. B. verschiedene Serum-, Blut- und Organproteine, Peptone, Fleischextrakte usw. Man kann in diesen Medien die Rolle einzelner chemischer Körper beim Wachstum der Bakterienzellen und beim Zustandekommen ihrer verschiedenen morphologischen und physiologischen Eigenschaften nicht richtig beurteilen.

Daraus entstand ein Bedürfnis nach den sog. „synthetischen“ Nährböden, die nur chemisch einfache und gut definierte Substanzen enthalten. Diese Media enthalten das allernotwendigste Minimum der von den Diphtheriebakterien zur Deckung ihres Stoff- und Energiebedarfs benötigten Ausgangsprodukte. Diese Stoffe müssen auch zum Aufbau der Bakterienzellen und ihrer lebenswichtigen Wirkstoffe ausreichen. Für das Studium der Zusammensetzung solcher Nährböden haben in neuerer Zeit in erster Linie die Schulen von **H. Braun** (Frankfurt a. M.) und von **H. J. Mueller** (Boston) besonders wertvolle Beiträge geliefert.

Ausgehend von den Arbeiten älterer Autoren [**Uschinski, C. Fränkel, Hodley** und **Gorham, v. Gröer, Leichtentritt** und **Zielaskowski, Hosoya** und **Kuroya-zit.** nach **H. Braun und F. Mündel** (108)] und eigenen Untersuchungen über den Verwendungsstoffwechsel anderer pathogener Bakterien untersuchte **H. Braun** mit seinen Mitarbeitern (107, 109, 110) die minimalen Ernährungsbedürfnisse der Diphtheriebakterien. Die von **Braun** untersuchten Stämme erwiesen sich als ziemlich anspruchsvoll. Nur die Asparagin- und Glutaminsäuren, ihre Salze und das Asparagin wurden von den Diphtheriebakterien als Stickstoffquellen verwertet. Keine andere Aminosäure weder sonstige organische noch anorganische N-Verbindungen können diese Substanzen bei der Züchtung von Diphtheriebakterien in synthetischen Lösungen ersetzen. Die minimal notwendige Konzentration an diesen zweibasischen Aminosäuren beträgt ca. 125 mg %.

Die Bedeutung dieser Befunde ist erst jetzt im Lichte der modernen fermentchemischen Untersuchungen klar geworden, denen zufolge die Glutaminsäure (in kleinerem Umfange auch die Asparaginsäure) den Mittelpunkt bei der Synthese von Aminosäuren im pflanzlichen und tierischen Organismus einnehmen [Zusammenfassende Darstellungen bei **W. Franke** (125), **T. Wieland** (163) u. a.]. Mit Hilfe der Enzyme Glutamin bzw. Aspartico-Aminopherase, die z. B. in Hefen und Colibakterien nachgewiesen wurden, werden die entstehenden Aminogruppen der Glutamin- bzw. Asparaginsäuren auf die entsprechenden $\alpha$-Ketosäuren übertragen und dadurch wird die biologische Synthese einiger Aminosäuren bewirkt:

$$\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ CH.NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + \begin{array}{c} R_2 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} R_1 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} + \begin{array}{c} R_2 \\ | \\ CH.NH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

Wenn in einer synthetischen Nährlösung Glutaminate oder Asparaginate vorhanden sind, bilden sie das $NH_2$-liefendere Depot, aus dem die im intermediären Stoff-

wechsel anfallenden $\alpha$-Ketonsäuren mit Aminogruppen versehen und dadurch in die in der Nährlösung nicht vorhandenen, für die Eiweißsynthese aber nötigen Aminosäuren umgebaut werden.

Außer den erwähnten dibasischen Aminosäuren brauchen die Diphtheriebakterien zu ihrem Wachstum noch unbedingt das **Zystin.** Die minimale Konzentration beträgt 2—3 mg %, die optimale ca. 12,5 mg %. Das Zystin (**H. Braun** und **F. Mündel** (111); **F. A. Lentze** (100)) wirkt wahrscheinlich nicht als Stickstoffquelle, sondern hauptsächlich als ein Redoxkörper, gemäß seiner Fähigkeit zur Ausbildung eines Gleichgewichts

$$
2\ \begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CH.SH. \\ | \\ COOH \end{array}
\rightleftharpoons
\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ HC \\ | \\ COOH \end{array}
—S—S—
\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CH \\ | \\ COOH \end{array}
$$

Dabei ist die ausschlaggebende Rolle der Sulfhydryl-Gruppe des Zysteins zu betonen, an der sich die eigentliche Dehydrierung (mit Bildung der Disulfidgruppe — S — S —) abspielt.

Die Lage dieses Gleichgewichts beeinflußt weitgehend die Redoxverhältnisse innerhalb und außerhalb der sich entwickelnden Zellen und bestimmt die Richtung vieler enzymatischer Reaktionen (**H. Büsing** (113)). Das Zystin wird mit Erfolg durch andere organische und sogar anorganische schwefelhaltige Körper ersetzt, so z. B. durch $H_2S$, $Na_2S$, Schwefelblüte, Thioglykol- und Thiomilchsäure. (**H. Braun** (110), **C. J. Tietz** (160)). In ihrer Anwesenheit entwickeln die Diphtheriebakterien Schwefelwasserstoff.

Die von **H. Braun** untersuchten Stämme der Diphtheriebakterien vermehrten sich, wenn auch nicht besonders üppig, in einer Lösung, die außer den anorganischen Salzen nur 125 mg % Na-asparaginat und 12,5 mg % Zystin enthielt. Wenn zu dieser Grundlösung gewisse Substanzen zugesetzt wurden, deren Zugabe das Wachstum der Diphtheriebakterien schneller und üppiger machte, wurde somit ihre Verwertbarkeit durch Diphtheriebakterien als nachgewiesen betrachtet. In dieser Weise geprüft, haben sich von den Salzen der organischen Säuren: Acetate und Lactate, von den mehrwertigen Alkoholen: Glyzerin und von den Zuckern: Glukose, Fruktose und Maltose als verwertbar erwiesen; nicht aber Ameisen-, Propion-, Oxal-, Wein- und Zitronensäure, Mannit und Saccharose. Das gibt eine gewisse Vorstellung über die in Diphtheriebakterien vorkommenden glykolytischen Fermente und Dehydrasen.

Besonders wichtig war die Feststellung, daß von den geprüften anorganischen Substanzen die Ionen $Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$— $Cl'$ und $SO_4''$ für die Diphtheriebakterien völlig entbehrlich sind. In einer späteren Arbeit findet aber **Braun** (112), daß das Magnesiumion für anspruchslose Diphtheriestämme unentbehrlich ist. Die Phosphate sind lebenswichtig und in ihrer Abwesenheit kommt kein Wachstum zustande. Das ist auch leicht einzusehen, nachdem die gewaltige Rolle des Phosphors bei den wichtigsten energieliefernden Vorgängen in allen Zellen erschlossen wurde (s. z. B. **F. Lynen** (139)). Mindestkonzentration des Phosphats in einer synthetischen Lösung, die zum Diphtheriebakterienwachstum ausreicht, beträgt 10 mg %.

Von anderen Bestandteilen betont **H. Braun** die Notwendigkeit minimalster Eisenmengen, denen er die Rolle eines Katalysators der Zystein- und Glutathionoxydation zuschreibt, die aber in Wirklichkeit wahrscheinlich viel umfangreicher ist. Größere Mengen Eisen hemmen das Wachstum der Diphtheriebakterien.

Das pH-Optimum in synthetischer Lösung wurde gleich 7,6—8,2 gefunden.

Auf diesen Erkenntnissen baute **H. Braun** seine vollwertige synthetische Lösung zur Züchtung der Diphtheriebakterien auf. In diesem Substrat züchtete er seine Stämme in weit mehr als 100 Passagen und hat dabei keine größeren Veränderungen in ihrer Morphologie und Virulenz festgestellt. Die Toxinbildung aber war sehr

schwach oder fehlte sogar. Außerdem gelang die Züchtung nur aerob. Nicht alle Diphtheriestämme wuchsen in diesem Nährboden, besonders die älteren Laboratoriumsstämme gingen dort nicht an. Auf Grund ihres Verhaltens gegenüber seiner synthetischen Nährlösung teilt **Braun** alle Diphtheriestämme in anspruchslose und anspruchsvolle ein.

**H. Schmidt** (158) ergänzte diese Befunde insoweit, daß er die breitere (pH = 5,9—9,4) und engere (pH = 6,2—8,9) verträgliche und die optimale (pH = 7,8—8,3) pH-Wachstumzonen für fünf anspruchslose Diphtheriestämme in der synthetischen Asparaginsäure + Zystin + Acetat-Nährlösung feststellte. Außerdem bestätigte er an drei neuen Stämmen die wachstumsfördernde Wirkung von Lactat, Succinat, Glyzerin und kleineren Konzentrationen (bis 1 %) von Glukose. Er bestätigte, daß nur Asparaginsäure und in geringerem Maße das Asparagin und die Glutaminsäure den geprüften Stämmen als N-Quelle dienen können. **Glykokoll, Alanin, Valin, Serin, Prolin, Histidin, Tryptophan und Glyzylglyzin** erwiesen sich als unfähig, den Diphtheriebakterien Wachstum zu ermöglichen. Von den anspruchsvollen Stämmen, worunter sich einige gute Toxinbildner (in gewöhnlicher Bouillon) befanden, ließen sich keine anspruchslosen Tochterstämme abdissoziieren.

Die Düsseldorfer Forscher **A.** und **G. Hottinger (135)**, sowie **J. Nitsch** (156) vertieften und ergänzten diese Studien über den Verwendungsstoffwechsel der Diphtheriebakterien. Sie fanden, daß zwischen den untersuchten zehn „gewöhnlichen" und zehn „toxischen" Diphtheriestämmen keine Unterschiede in der Verwertung einzelner ihnen dargebotenen Substanzen, sowie in den bei ihrem Abbau auftretenden Endprodukten vorgekommen waren. Die meisten dieser Stämme gingen in der Braunschen synthetischen Lösung an. Die Aminosäuren bildeten für sie nicht nur die einzige Stickstoff-, sondern auch eine wesentliche Energiequelle. Die Aminosäuren wurden dabei desaminiert und oxydiert. Bis zu 40 % der im Nährboden vorhandenen Aminosäuren wurden abgebaut unter Bildung von $NH_3$, $CO_2$ und organischen Säuren. Dabei stieg das pH der Lösung an. Aber der Stickstoffansatz der Kulturen war gering; nur 5 % des angebotenen Stickstoffs wurde in die Zellsubstanz eingebaut.

Von einzelnen Aminosäuren wurden am besten Asparaginsäure und Zystin verwertet, weniger gut Arginin und Tryptophan. Die Toxinbildung erfolgte nur in zystinhaltigen Lösungen.

Beim Vorhandensein von zwei Grundaminosäuren (Asparaginsäure und Zystin) förderten Ammoniumsuccinat, Harnstoff und Glukose das Wachstum der Bakterien. Der Zusatz von Pepton (auch von Peptonhydrolysat) führte zu einem üppigeren Wachstum und besserer Toxinbildung.

Aus der Gasphase über der Kultur verbrauchten die Diphtheriebakterien den Sauerstoff, nicht aber Stickstoff und Kohlendioxyd.

Die Proteine der in der synthetischen Lösung gezüchteten Diphtheriebakterien wichen von derjenigen der Bouillonkulturen insofern ab, als sie besonders an Tryptophan reich waren.

**F. Lieb** und **W. Reichelt** (138) untersuchten den Abbau einiger Aminosäuren durch die Aufschwemmungen der Diphtheriebakterien mit Hilfe des kolorimetrischen Verfahrens nach **Folin** und fanden, daß diese Keime am stärksten das Asparagin ersetzen. Die Spaltung von Alanin und Glykokoll war viel schwächer und kam nicht bei allen Stämmen vor. Asparaginsäure und Tyrosin wurden nur ausnahmsweise gespalten.

1933 begann **H. J. Mueller** (140) mit seinen Mitarbeitern eine Reihe von umfangreichen Studien über den Verwendungsstoffwechsel der Diphtheriebakterien. Zuerst stellte er für einen Stamm („Ho-Yu") fest, daß für sein Wachstum außer Tryptophan, Zystin, sowie Äthanol als C-Quelle, noch zwei nicht näher bestimmte Substanzen unentbehrlich sind. Die erste befand sich in der Prolinfraktion des Schwefelsäurehydrolysats des Kaseins, die andere, die keine Base war, im Liebigs Fleischextrakt. In weiteren Untersuchungen (141, 142) fand er, daß außer Tryptophan und Zystin noch folgende Aminosäuren wachstumsfördernd wirken; **Methionin** (2,5—7,5 mg %, **Histidin**

und **Glutaminsäure.** Auch die anderen Aminosäuren: **Phenylalanin, Glykokoll** und **dl-Valin** können das Wachstum der Diphtheriebakterien steigern, aber nur in Gegenwart von Methionin, einer schwefelhaltigen Aminosäure, die zusammen mit dem Zystin die S-Quelle für die Diphtheriebakterien darstellt.

Weiterhin wurden in bezug auf die unentbehrlichen Aminosäuren deutliche individuelle Unterschiede bei einzelnen Stämmen beobachtet. Nach einer Anpassung an das Substrat wuchsen die geprüften Stämme üppiger als im Anfang.

In weiterer Verfolgung seiner Studien richtete **H. J. Mueller** (143) seine Aufmerksamkeit auf die Bedeutung der **d-Glutaminsäure.** Er fand, daß sie weder beim Ho-Yu noch bei den Park-Williams-Diphtheriestämmen in der Nährlösung fehlen durfte. Sie wurde in auffallend großen Mengen benötigt. Die synthetische dl-Glutaminsäure besaß nur eine Hälfte der Wirksamkeit der natürlichen d-Glutaminsäure, was bedeutet, daß nur der d-Anteil wirksam ist.

In einer synthetischen Lösung (144, 145), die die obengenannten Aminosäuren, eine bestimmte Salzmischung und etwas Äthanol (oder Glyzerin) als C-Quelle enthielt, wirkte eine Substanz auf Diphtheriebakterien deutlich wachstumsfördernd, die aus der gegen perniziöse Anämie wirksamen Fraktion des Leberextrakts durch Adsorption an Notit und Elution mit Säurealkohol gewonnen wurde — **„Lebereluat".** Dieses Lebereluat erwies sich als dem Liebigs-Fleischextrakt gleichwertig.

Bei weiteren Reinigungsversuchen (146, 147) des Lebereluats, die mit einem besonders schnell wachsenden, hochvirulenten, aber fast kein Toxin bildenden Stamm **„Allen"** durchgeführt wurden, gewann man zwei Fraktionen, die nur kombiniert die volle Wirkung auf das Keimwachstum ausübten. Die in Äther lösliche Substanz erwies sich als mit der **Pimelinsäure**

$$COOH \cdot (CH_2)_5 \cdot COOH$$

identisch. Ihre optimale Konzentration im Nährboden beträgt 2,5 mg %. Die anderen diabasischen Säuren (von Oxal- bis Azelainsäure) wirkten nicht auf das Diphtheriebakterienwachstum. Wenn die Pimelinsäure abwesend ist, brauchen die Diphtheriebakterien zu ihrem Wachstum des Vorhandenseins von **Biotin.** Wahrscheinlich synthetisieren die Diphtheriebakterien ihr Biotin aus der Pimelinsäure, da der Zusatz dieses Wuchsstoffs in Anwesenheit der Pimelinsäure völlig entbehrlich ist und ihr Zusatz steigert das Wachstum nicht. Der optimale Gehalt an diesen Substanzen ist 15 $\gamma$ % **(du Vigneaud** und **Mitarbeiter)** (120).

Von anderen wachstumsfördernden Bestandteilen des Lebereluats ist **Nikotinsäure** bekanntgeworden, die aber schwächer als Pimelinsäure wirksam ist. Nikotinamid wirkt noch schwächer (148—150). Weiter ist das $\beta$**-Alanin** anzuführen, das auch im Vakuumdestillat des Leberextrakts vorkommt. Das **l-Carnosin** kann das $\beta$-Alanin ersetzen, da das $\beta$-Alanin aus dem l-Carnosin (nicht aber aus seiner d-Form) durch enzymatischen Abbau entsteht (151). Die Diphtheriebakterien benötigen das $\beta$-Alanin wahrscheinlich für den Aufbau von Panthothensäure **(J. H. Mueller** and **W. Klotz)** (154).

Weitere Verbesserungen des synthetischen Nährbodens durch Zusatz von **d-Milchsäure** und sehr kleinen Mengen von **Fe, Mn, Cu** und **Zn** (152) haben die Ausbeute an Diphtheriebakterien für den Stamm „Allen" verdrei- bis vierfacht (ca. 9 mg bakteriellen Stickstoffs pro 10 ccm Nährboden).

Auf solchen Nährböden wuchsen die Stämme Ho-Yu, Park-Williams und Allen; aber für gewisse Diphtheriestämme, besonders für die Mehrzahl frisch isolierter, fehlte noch eine wichtige Wachstumssubstanz, unbekannter Natur,die im Blut vorhanden ist (150—153). Man vermutet, daß für gute Kolonienentwicklung gewisser Stämme, besonders vom Typ Gravis, noch zwei oder mehrere Stoffe notwendig sind. Diese Stoffe, die im Pferde- und Rinderserum (nicht aber im Menschen- und Schweineserum) enthalten sind, werden durch die Proteingerinnung nicht zerstört. Sie sind nicht dialysabel. Mindestens einer davon ist im Äthanol und Aceton löslich, die anderen im

Wasser. Die acetonlösliche Fraktion ist mit der Ölsäure identisch (118, 119), die in einer Konzentration von ca. 5.5 mg % optimal wirkt; die Konzentrationen von ca. 25 mg % hemmen schon das Wachstum. Der wasserlösliche Faktor wurde noch nicht identifiziert; er ist gegenüber heißen Säuren und Laugen relativ unbeständig.

Man sieht aus der obigen Zusammenstellung, wie mannigfaltig und von Stamm zu Stamm verschieden die Wuchsstoffbedürfnisse der Diphtheriebakterien sind. Man kann sich zur Zeit noch kein vollständiges Bild darüber machen, auch nicht über die physiologische Rolle aller bisher entdeckten Wuchsfaktoren. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Niktotinsäure zur Bildung der pyridinhaltigen Codehydrase I und II benötigt werden kann (**Franke** (126)).

Es ist auch möglich, daß die Ölsäure im Redoxgeschehen der Zelle vermittels der Hydrierung seiner Äthylenbindung im Sinne der Versuche von **F. G. Fischer** (124) und Mitarbeiter eine wichtige Rolle spielen kann. Die ungesättigten Fettsäuren, besonders die Ölsäure, besitzen eine sehr wichtige Eigenschaft, in passenden Konzentrationen die Entwicklung der Diphtheriebakterien elektiv zu hemmen (**Hettche** (131)). Dieses Merkmal wurde von **Engering** (200) zur Herstellung seiner selektiven Oleat-Platte ausgenützt, die die meisten Diphtheriestämme in ihrem Wachstum hemmt, während die Pseudodiphtheriebakterien sich gut darauf entwickeln können.

Die antibiotische Wirksamkeit (in vitro) von B. mensentericus vulgatus (**Hettche** und **Weber** (133)), **Weiland** (162)), der Pyozanase (**Wagner** (161)), **Hettche** (132)), sowie einiger vergrünender Mundstreptokoken (**Koelzl** (134)), den Diphtheriebakterien gegenüber beruht auf ihrem Gehalt an gewissen ungesättigten Lipoiden und Fettsäuren.

**Larson** (137) hat gefunden, daß das Abszesseiter 1—4 Dlm des Diphtherietoxins zu neutralisieren vermag. Nach der Extraktion des getrockneten Eiters mit Äther und Alkohol verliert der erhaltene Rückstand seine entgiftende Kraft. Die nach der Verseifung des Extrakts erhaltenen Fettsäuren, die zum größten Teil der Ölsäurereihe angehören, sind ebenso wirksam wie die Extrakte selbst. Lezithin, Cholesterin und Kefalin wirken ebenfalls detoxifizierend. Es wird vermutet, daß die Fettsäuren und ihre Derivate auch in vivo bei der Abwehr der Diphtherieintoxikation eine wichtige Rolle spielen können.

Das $\beta$-Alanin soll der Synthese des Wuchsstoffs-Panthothensäure dienen. Direkt nachgewiesen ist das nicht; weitere Forschungen in dieser Richtung sind mehr als erwünscht, wegen der großen Aussichten, die sie bei der Herstellung von hochwertigen diagnostischen und industriellen, der Toxingewinnung dienenden, Nährböden eröffnen sollen.

Als ein provisorisches Zwischenresultat veröffentlichte **Mueller 1938** (152) das Rezept eines halbsynthetischen Nährbodens, auf dem der Torontoer Stamm Park-Williams Nr. 8—60 Lf Toxin pro ccm und 1 Dlm in 0,0005 ccm lieferte. Er besteht aus: I: Einem Salzsäurehydrolysat des Kaseins, das eisenfrei und 10 % Eiweiß äquivalent ist; II: einer wässerigen Lösung von $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ = 22,5 %, $\beta$-Alanin = 0,115 %; Nikotinsäure = 0,115 %; Pimelinsäure = 7,50 mg %; $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ = 0,05 %; $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$ = 0,04 %; $MnCl_2$ = 0,015 %; III: 20 % schwach salzsaurer Zystinlösung; IV: 1 % Lösung von $FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$ in 1 % HCl; V: 50 % Lösung von Maltose, die 0,5 % $CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$ enthält.

175 ccm Kaseinhydrolysats werden mit 825 ccm Wasser und je 2 ccm der Lösung II und III und einer empirisch festzustellenden Eisenmenge vermischt. Nach dem Sterilisieren werden 3,5 ccm Lösung V pro 100 ccm Nährboden zugesetzt. Alle Lösungen sind lange haltbar.

Die Gruppe englischer Forscher aus Leeds (**W. C. Evans, F. C. Happold, W. R. C. Handley, F. W. Chattaway u. a.**), die 1931 zuerst eine praktisch brauchbare Einteilung der Dyphtheriebakterien in die Typen Gravis, Intermedius und Mitis durchführten, schenkte der Frage des Verwendungsstoffwechsels einzelner Typen in synthetischen Medien ihre besondere Aufmerksamkeit. Die Hauptursache dafür bildete die Erkennt-

nis, daß es bis dahin (1939) noch nicht gelungen war, von Gravis-Stämmen in synthetischen Kulturen ein wirksames Toxin zu erhalten. Das steht im Gegensatz zu der großen pathogenetischen Bedeutung dieses Typs. Es wurde versucht, die erhöhte Pathogenität dieser Keime durch ihre höhere invasive Kraft oder durch ihre Fähigkeit das Toxin nur in vivo, nicht aber in vitro zu erzeugen, zu erklären.

Die meisten untersuchten Gravis- und Mitisstämme (123) gingen in der Muellerschen synthetischen Lösung an, während die Züchtung von Intermediumstämmen nur nach einigen Abänderungen in dem Substrat gelang. Es wurde eine neue Salzmischung, die 50 mal mehr Mineralbestandteile als die Mueller-Lösung, sowie das käufliche, nicht gereinigte Kasein enthielt, zur Herstellung des für Intermedius geeigneten Mediums verwendet.

Das Wachstum der Gravisstämme in der Muellerschen Lösung wurde besonders nach dem Zusatz von **Panthothensäure** wesentlich gefördert. Diese Säure konnte auch die aktivierende Wirkung der Leber- und anderer Gewebsextrakte fast völlig ersetzen. Auch in dem Filtrat der Diphtheriebakterienkulturen auf dem Aminossäurennährboden nach **Evans** u. a. wurde ein aktiver Wachstumsfaktor nachgewiesen, wobei es sich offenbar ebenfalls um Panthothensäure handelt. In bestimmten Nährböden können die Diphtheriebakterien gewisse Substanzen selbst synthetisieren, deren Wirkung den vom Aneurin, Riboflavin, Codehydrasen I und II, sowie von der Panthothensäure ausgeübten Wirkungen ähnlich war.

Ein neuer Wuchsfaktor wurde aus den Rückständen des ersten und zweiten **Glaxo**-Leberfiltrats dargestellt (115), welches das Wachstum von Gravis und Intermedius-Stämmen im synthetischen Medium fördert. Er ist als vom Biotin verschieden gefunden. Nach den ersten chromatographischen Analysen wurde vermutet, daß es sich hierbei um die **p-Aminobenzoesäure** handelt.

In neuester Zeit (116) erscheint dieser neue Faktor als in vielen Hinsichten von der für Lactobacillus casei wichtigen p-Aminobenzolsäure verschieden. Er ist im Äthanol und anderen organischen Lösungsmitteln unlöslich. Nach 15 Minuten Kochen mit Ninhydrin in einer 1/3 gesättigten Kaliumbiphosphatlösung wird er zerstört. Er wird nicht durch p-Kresol gelöst. Außerdem ist er durch Silbersalze bei pH = 7 nicht ausfällbar. Seine wirkliche Natur bleibt zur Zeit ungeklärt. Er ist relativ säurestabil, aber stark alkaliempfindlich. $H_2O_2$ und Nitrite, sowie die Methylenisierung bzw. Acetylierung zerstören ihn ebenfalls. Er ist an der Noritkohle adsorbierbar. Er wirkt wachstumsfördernd auf Diphtheriebakterien noch in einer Konzentration von 5 $\gamma$ ‰, die optimale Konzentration ist von ca. 500 $\gamma$ % (**Chattaway** und **Mitarb.** (117)).

Daß der p-Aminobenzoesäure doch eine wichtige Rolle im Leben der Diphtheriebakterien zukommen muß, ersieht man deutlich aus der Tatsache der wachstumshemmenden Wirkung von Sulfonamiden auf diese Keime. **R. Kuhn** (136), **F. Möller** u. a. haben gezeigt, daß die p-Aminobenzoesäure das wirksamste Vitamin ist, das wir kennen, das noch in einer Verdünnung von 1 : 10 II auf das Wachstum einiger Mikroben fördernd wirkt. Seine Wirksamkeit tritt besonders deutlich bei seiner Konkurrenz mit ähnlich gebauten **Sulfonamiden** zutage. Die Sulfonamide verdrängen die p-Aminobenzoesäure, infolge der Ähnlichkeit ihrer chemischen Strukturen, von den lebenswichtigen Wirkzentren der Bakterienzellen und üben dadurch ihre wachstumshemmende Wirkung aus.

$NH_2 . C_6H_4 . COOH$ = p-Aminobenzoesäure = Wuchsstoff
$NH_2 . C_6H_4 . SO_3H$ = p-Sulfanilsäure = Hemmstoff.

**F. Nitti, M. Philippe** und **D. Bovet** (155) fanden, daß das p-Aminophenylsulfamid (Präparat 1162 F) in vitro eine verzögernde Wirkung auf das Wachstum der Diphtheriebakterien ausübt, aber die Toxinbildung nicht verhindert. Nach einer Reihe von Passagen gewöhnen sich die Diphtheriebakterien an das Sulfonamid, gleichzeitig werden sie auch den anderen Schwefelverbindungen, z. B. den Sulfonen, gegenüber unempfindlich.

Ähnliches beobachteten auch **A. Rouslacrois, E. Schafer** und **H. Mosser** (157), die bei den in sulfopyridinhaltiger Bouillon gezüchteten Diphtheriebakterien eine verminderte Virulenz für das Meerschweinchen sahen. Wurde das Sulfonamid erst nach 24—72 Stunden der Bebrütung der Kultur zugesetzt, blieb die Wirkung aus. Auch die perorale bzw. subkutane Behandlung der mit Diphtheriebakterien infizierten Meerschweinchen mit Sulfonamid erhielt die Tiere mehrere Tage am Leben, während die unbehandelten Kontrollen unablässig starben. **H. Burton, J. W., T. S. MacLeod** und **A. Mayr-Harting** (114) fanden, daß das Sulfanilamid und p-Hydroxylaminosulfonamid auf Diphtheriebakterien stark wachstumshemmend wirken, während das p-Nitrobenzolsulfonamid viel schwächer ist. Diese Beobachtung wurde als Unterstützung ihrer Auffassung über die Bedeutung von intermediär auftretenden Reduktionsstufen von Sulfonamiden für ihre Wirksamkeit auf die pathogenen Bakterien in vivo herangezogen.

**H. Hompesch** (237) beobachtete, daß alle drei Diphtheriebakterientypen in ihrem Wachstum in Rindfleischbouillon durch verschiedene Sulfonamide gehemmt wurden. Besonders starke Wirkung hatten Globucid und Albucid, etwas schwächere — Prontosil solubile, gar keine — Tibatin. Der Typ Intermedius erwies sich als den Sulfonamiden gegenüber viel empfindlicher als die Typen Gravis und Mitis. Die wachstumshemmende Wirkung der geprüften Präparate wurde durch Zusatz von p-Aminobenzoesäure regelmäßig aufgehoben.

**O. Stickl** und **K. Gärtner** (159) beobachteten, daß bei Meerschweinchen und Kaninchen, die mit einer zweifachen sicheren tödlichen Dosis des Diphtherietoxins vergiftet waren, eine Nachbehandlung mit verschiedenen Sulfonamiden bei einem Teil der Tiere lebensrettend wirkt. Die Autoren glauben, daß es sich dabei um eine richtige Neutralisation des Toxins durch Sulfonamide in vivo handeln muß, weil die verwendeten Bakterienkulturfiltrate vollkommen keimfrei waren, so daß eine Vermehrungshemmung der Keime in vivo dabei nicht in Frage kommt. Man muß dabei aber mit der Möglichkeit einer unspezifischen Beeinflussung der Abwehrvorrichtungen (etwa des RES des tierischen Organismus) durch Sulfonamide rechnen.

Die Diphtheriebakterienstämme, die von den mit Globucid (dreimal täglich je zwei Tabletten) behandelten Diphtheriekranken isoliert waren, sind durch ihre verminderte Vitalität in künstlichen Nährböden ausgezeichnet. Gute therapeutische Erfolge bei maligner Diphtherie wurden mit 7—8 gr Globucid (intravenoes) während zwei bis drei Tagen, begleitet durch Rachenspülung mit 3—5 %iger Globucidlösung erzielt (**Harmsen** und **Siegler** (130)).

Wenn wir, zusammenfassend, eine Liste der bisher entdeckten Wachstumsstoffe der Diphtheriebakterien aufstellen wollen, müssen wir zwischen den **unentbehrlichen** und **wachstumsfördernden Faktoren** unterscheiden.

Zu der ersten Gruppe gehören: die dibasischen Aminosäuren (Glutominsäure, Asparaginsäure) und ihre Amide, Zystin und Phosphate.

Mit diesen Stoffen allein können einige Stämme zur Entwicklung kommen. Meistenteils benötigen aber die Diphtheriebakterien zu ihrem ergiebigen Wachstum noch:

**Aminosäuren:** Glykokoll, dl-Valin, dl-Methionin, dl-Phenylalanin, l-Tryptophan und l-Histidin. Nach den Ergebnissen von **L. C. Banguesg** (106) verwertet der Stamm Ho-Yu außer dem l-Tryptophan auch seine d-Form.

**β-Alanin, Panthothensäure;**

**Primelinsäure, Ölsäure, p-Aminobenzoesäure.**

**C-Quellen:** d-Laktat, Äthanol, Glyzerin, Zucker (Glukose, Maltose, Fruktose);

**Ionen:** K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn und Sulfate und Chloride.

Aber auch in Anwesenheit aller dieser Stoffe ist der Nährboden nicht für alle Stämme und nicht unter beliebigen Züchtungsbedingungen anwendbar, noch ist er geeignet, eine optimale Toxinbildung bei allen Stämmen einzuleiten. Es bestehen große individuelle Unterschiede zwischen einzelnen Stämmen hinsichtlich ihrer Ernährungsbedürfnisse.

Neben den oben zitierten wachstumsfördernden Substanzen gibt es noch einige, die das Wachstum der Diphtheriebakterien mehr oder weniger spezifisch hemmen können. **V. Glass** (128, 129) beobachtete, daß das durch Hitze, Säuren oder Alkalien koagulierte Blut auch das verdaute Blut, sowie Haematin das Wachstum der Diphtheriebakterien, besonders des Typs Mitis, hemmen. Diese Wirkung ist an die Anwesenheit von Eisen in den Blutprodukten gebunden, da sie bei anaerober Bebrütung, sowie beim Zusatz von Natriumsulfit oder KCN aufgehoben wird, und da das Haematoporphyrin keine Wachstumshemmung ausübt. Diese Wirkung ist aber nicht mit der Peroxydaseaktivität des Haematins verknüpft, weil das Verhältnis der minimalen wachstumshemmenden Dosis des Haematins 1 : 50 beträgt. Es handelt sich wahrscheinlich um eine Störung der Atmungsfermente der Diphtheriebakterien.

Es war lange Zeit nicht gelungen die Diphtheriebakterien in einer synthetischen Lösung anaerob zu züchten. 1937 berichtete **O. Ehrismann** (121) über erste erfolgreiche Versuche in dieser Richtung. Er hat für die anaerobe Kultivierung von einigen Diphtheriestämmen eine synthetische Lösung folgender Zusammensetzung benutzt:

| | | |
|---|---|---|
| NaCl | 0,5 gr | |
| $KH_2PO_4$ | 0,05 gr | |
| $K_2HPO_4$ | 0,15 gr | |
| $MgSO_4$ | 0,005 gr | |
| Na-asparaginat | 0,125 gr | |
| Zystin (Zystein) | 0,0125 gr | |
| Na-succinat | 0,5 gr | |
| Na-fumarat | 0,5 gr | |
| Dest. Wasser | ad 100,0 gr | pH = 7,6. |

In dieser Lösung spielt Na-succinat die Rolle eines Wasserstoff-donators, Na-fumarat die eines Wasserstoffacceptors. Sie können durch Brenztraubensäure oder ein Aminosäurengemisch nach **Stickland** oder durch $NaNO_2$ ersetzt werden. Zu dieser Grundlösung wurden als C-Quellen-Glukose oder Fruktose, Glyzerin, Maltose, Nalaktat und Na-malat zwecks Wachstumsverbesserung zugesetzt.

Die in solchem Nährboden anaerob gezüchteten Diphtherie-Stämme ließen schon nach drei bis vier Passagen das Auftreten von atypischen, wahrscheinlich degenerativen Kugelformen der Bakterienzellen erkennen, die, auf einen passenden Nährboden übertragen, sich wieder zur normalen Zellform zurückverwandelten. Eine Toxinbildung konnte unter den obigen Bedingungen nicht erzielt werden. Die Virulenz der Keime wurde abgeschwächt. Das invasive Vermögen im tierischen Organismus blieb dagegen unverändert.

Am besten entwickelten sich in solchem Medium Mitiskeime, an zweiter Stelle Gravis-Stämme. Intermedius wuchs in diesem Substrat überhaupt nicht.

Es wurde dabei die interessante Beobachtung gemacht, daß in dieser synthetischen Lösung weder Ascorbinsäure, noch die Ferro-Ionen einen Einfluß auf das Bakterienwachstum ausübten. Auch (122) unter aeroben Bedingungen auf gewöhnlichen Nährböden veränderte die Ascorbinsäure das Wachstum der Diphtheriebakterien nicht, während die Pseudodiphtheriebakterien dadurch in ihrem Wachstum stark gehemmt wurden. Diese Beobachtungen wurden durch das verhältnismäßig niedrige Normal-Redoxpotential der Ascorbinsäure (Eh = —0,070 Volt bei pH = 7) erklärt, das mit dem Wachstum der streng aeroben Pseudodiphtheriebakterien nicht verträglich sein soll. Die fakultativ anaeroben Diphtheriekeime können dagegen bei diesen Redoxververhältnissen noch ganz gut gedeihen. Die Frage der Beeinflussung einzelner Partialfunktionen der Mikroorganismen durch die Redoxsubstanzen befindet sich noch in den Anfängen ihrer Entwicklung, so daß zur Zeit keine umfassende Erklärung der auf diesem Gebiete gesammelten Beobachtungen möglich ist.

Nach **J. Gordon** und **J. C. Knox** (127) wirken die wässrigen bei 65 % ohne Luftabschluß hergestellten Auszüge aus den Rinder-Nebennieren hemmend auf das Wachstum der Diphtheriebakterien.

## 2. **Energieliefernde Vorgänge.**

Vom energetischen Standpunkt aus betrachtet sind alle Lebewesen solche Systeme, in denen die irreversiblen Energieentwertungsprozesse, die überall in der Natur gemäß dem zweiten Prinzip der Thermodynamik verlaufen, durch sinngemäße Zwischenschaltung von fast umkehrbar arbeitenden Teilvorgängen so gestaltet sind, daß der Energiestrom je nach den vorliegenden Bedürfnissen in der gewünschten Richtung fast augenblicklich gelenkt werden kann. Der Abbau wird in Synthese übergeleitet, Dissimilation in Assimilation und umgekehrt.

Die beim Abbau von energiereicheren Verbindungen gewonnenen Beträge an freier Energie werden entweder den spezifischen Effektoren, z. B. den Muskelfasern, zugeführt oder zum Aufbau anderer lebenswichtiger Substanzen oder Mikrostrukturen verwendet. Diese letzteren besitzen wiederum einen höheren Energieinhalt als ihre Ausgangsprodukte. Als Beispiel eines solchen Vorganges sei die **Pasteur-Mayerhofsche Reaktion** genannt, bei der auf Kosten des Abbaus einer Anzahl von Milchsäuremolekülen, eine andere kleinere Anzahl von ihnen zum Glykogen resynthetisiert wird.

Dieser ständige Energiestrom läuft in beiden Richtungen — Abbau und Synthese — meistenteils über mehrere Zwischenstufen, wobei als eigentliche Energieüberträger bei den bisher bekanntgewordenen Vorgängen Wasserstoffatome (oder Wasserstoffionen-Protone) und Elektrone fungieren.

Dabei sind besonders zwei wichtige Spezialfälle gut zu unterscheiden. Bei den oxybiotischen Prozessen (Atmung in engerem Sinne) gelangen die H-Atome über eine Reihe von Pyridin-, Flavin- und Haeminzwischenfermenten in eine Berührung mit dem Sauerstoff, der seinerseits unter Beteiligung von eisenhaltigen Fermenten auf diese Begegnung mit Wasserstoff vorbereitet wird. Es entsteht dabei $H_2O_2$, dessen schädliche Wirkung durch die ubiquitär verbreitete Katalase vernichtet wird.

Bei den anoxybiotischen Lebensvorgängen (Gärungen) treten an Stelle des Sauerstoffs verschiedene andere Substanzen als H-acceptoren auf. Das sind meistens verschiedene wasserstoffärmere Zwischenprodukte des Zellstoffwechsels selbst. Bei diesen Prozessen pendeln also die Wasserstoffatome innerhalb des Kreislaufs des intermediären Stoffwechsels von gewissen Substanzen zu den anderen. Auch hierbei spielen die pyridinhaltigen Dehydrasen und gewisse flavinhaltige Zwischenfermente eine ausschlaggebende Rolle.

Die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien können die verschiedenartigsten Moleküle und Atomgruppen als H-Acceptoren benutzen, und zwar den molekularen Sauerstoff, verschiedene Farbstoffe aus der Gruppe der Redoxindikatoren, Nitrat-, Tellurit-, Selenit-, Sulfat-Anionen, mannigfaltige Produkte des intermediären Kohlehydrat- und Eiweißstoffwechsels u. a. Dabei übernehmen die Rolle der H-Donatoren die Kohlehydrate selbst, sowie ihre Abbauprodukte, ferner gewisse Aminosäuren, Glyzerin, Lezithin u. a. Bei den meisten dieser oxydoreduktiven Vorgänge ist die Beteiligung von Zystin nachgewiesen, in der letzten Zeit auch der Ascorbinsäure wahrscheinlich gemacht.

Die Anwesenheit des Sauerstoffs ist für das Wachstum der Diphtheriebakterien, wie wir früher gesehen haben, nicht unbedingt notwendig. Sie wirkt aber auf das Wachstum begünstigend. Die Diphtheriebakterien können sich auch in einer $H_2$-, $N_2$-, $CO_2$-Atmosphäre entwickeln **(R. Schröder)** (183). **W. N. Plastridge** und **L. F. Rettger** (180) sahen, daß der Zusatz von $CO_2$ zu der Kulturgefäßluft ein besseres Anfangswachstum ermöglicht. Bei den kohlehydratfreien Nährböden steigt mit der Zeit das pH an; $CO_2$ wirkt dieser Alkalisierung des Nährbodens entgegen. Dadurch wird auch das gebildete Toxin vor der Zerstörung geschützt. Eine zu große $CO_2$-Menge ist ungünstig, da sie den Nährboden zu stark ansäuert. Als optimal wurde bei einem Sauerstoffgehalt von 15—20 %, die $CO_2$-Konzentration 5—10 % gefunden. Wenn der Sauer-

stoffgehalt auf 1,5 % erniedrigt wird bei gleichzeitiger $CO_2$-Vermehrung, kommt es zu einer Verlangsamung des Wachstums und der Toxinbildung.

**P. Dahr** (166) beobachtete, daß alle untersuchten Vertreter der Corynebakteriengruppe in einer Leuchtgas- oder $H_2$-Atmosphäre gleich gut gedeihen. Die Experimente über die Wirkung der mit $CO_2$ stark angereicherten Atmosphäre auf das Wachstum der Corynebakterien berurteilt **Dahr** derart, daß alle geprüfte Diphtheriebakterien unter einer morphologischen Annäherung an die Pseudodiphtheriebakterien sich in $CO_2$ züchten lassen. Bei C. hoffmanii wurde ein Wachstum in der $CO_2$-haltigen Luft nur bei vier von 134 Stämmen beobachtet. Die anderen „Diphtheroiden" (darunter auch die saccharosespaltenden Paradiphtheriebakterien) verhalten sich dem Kohlendioxyd gegenüber verschieden und sind zum Teil $CO_2$-resistent, teilweise aber empfindlich. Für die Toxinbildung ist der Sauerstoff unentbehrlich. Noch **Roux** und **Martin** beobachteten eine deutliche Steigerung der Toxinausbeute bei einer ausreichenden Durchlüftung der Kulturflüssigkeit. **Lorentz** (101) züchtete die Diphtheriebakterien in einer $O_2$-Atmosphäre und beobachtete dabei, daß bei gleichzeitiger Verkleinerung der Kolonien die Virulenz der Diphtheriebakterien anstieg.

**Schneider** (181) hat schon nach einer Passage unter anaeroben Bedingungen eine deutliche Virulenzverminderung der Diphtheriebakterien festgestellt. **Beck** (164) konnte aber keine Parallelität zwischen der Virulenz der Diphtheriebakterien und dem partialen Druck des Sauerstoffs in dem Versuchsgefäß feststellen. Bei solchen unphysiologischen Wachstumsbedingungen wird öfter eine Annäherung des morphologischen Habitus der Diphtheriebakterien an den der Pseudodiphtheriebakterien bemerkt (Polkörnchenschwund, parallele Lagerung, äußere Struktur der einzelnen Zellen).

Die Pseudodiphtheriebakterien sind durch ihre streng aerobe Lebensweise ausgezeichnet, was auch in ihren anderen Lebensäußerungen zum Ausdruck kommt.

Bei den aeroben axidativen Prozessen benötigen die Diphtheriebakterien in ungewaschenem Zustand (Durchschnitt der ersten zwei Stunden) 3,36 $mm^3$ $O_2$ pro $1.10^8$ Keime und eine Stunde; dreimal mit einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung gewaschene — ca 0,83 $mm^3$, d. h. ungefähr 1/4 des ersten Werts (**Ehrismann** (167)). Wenn man den Anteil der vermehrungsfähigen Keime an der gesamten Keimzahl zu 1—10 % schätzt, ergeben sich 10—100mal größere Werte für die Sauerstoffzehrung der lebendigen Bakterien, was recht unwahrscheinlich ist und annehmen läßt, daß die Atmungsprozesse auch bei den abgestorbenen Keimen weiterbestehen können. Die beobachtete Verminderung des $O_2$-Verbrauchs nach dem Auswaschen der Keimsuspensionen ist auf die Ausschwemmung der leichtlöslichen H-Donatoren und der leichtdissoziirenden Kofermente (Codehydrasen) zurückzuführen, da nach der Wiederzugabe der Waschwässer der Sauerstoffverbrauch wieder ansteigt. Die Höhe der Sauerstoffzehrung nach der Zugabe von Waschwässern und entsprechenden H-Donatoren (z. B. des Laktats) ist höher als die Summe der Atmungswerte der gewaschenen Keime in Anwesenheit von Waschwässern und des Laktats allein.

Als H-Donatoren wurden dabei die folgenden Substanzen als geeignet gefunden: einige Aminosäuren, die von den Diphtheriebakterien als C- und N-Quellen verwendet werden, dann von den Zuckerarten: Glukose, Fruktose und Maltose, ebenso wie gewisse Zuckerabbauprodukte: Milchsäure, Brenztraubensäure, Bernsteinsäure, endlich Glyzerin und Lezithin. Zystin wirkt in so geringen Konzentrationen im Sinne einer Steigerung des $O_2$-Verbrauchs, daß ihm wahrscheinlich eher die Rolle eines Atmungskatalysators als die eines H-Donators zuzuschreiben ist.

Bemerkenswert ist dabei der Befund, daß das pH-Optimum für die Dehydrierung der zelleigenen H-Donatoren viel niedriger ist (pH = 6), als das Optimum für die Dehydrierung der zugesetzten chemisch definierten Substanzen (pH = 7,4—7,6).

Im Laufe des Keimvermehrungsvorganges wächst der Sauerstoffverbrauch ganz beträchtlich an und erreicht sein Maximum nach 8—10 Stunden, um nachher wieder abzunehmen, wahrscheinlich infolge des Überwiegens des Absterbe- und Autolyse-

prozesses in der Kultur. Insgesamt ist zum Aufbau der Masse von ca. $1 \cdot 10^9$ Keimen die Menge von ca. 250—550 $mm^3$ Sauerstoff in einer synthetischen Nährlösung, von ca. 650 $mm^3$ in Bouillon notwendig.

**Fujita** und **Kodama** (171) bestimmten die wichtigsten Stoffwechselquotienten bei verschiedenen pathogenen Mikroben und fanden bei den Diphtheriebakterien einen mäßig großen **Atmungsquotient**, d. h. die verbrauchte Sauerstoffmenge in $mm^3$ pro 1 Stunde und 1 mgr Trockengewicht. Auf verschiedenen Nährböden schwankten deren Werte erheblich: gewöhnlicher Agar = —66,4; Bouillon = 24,8; Glukoseagar = —40,0; Löfflerserum = —55,2; Blutagar (aerob gezüchtet) = —67,0; Blutagar (anaerob gezüchtet = —136,0. Auch die anderen Stoffwechselquotienten — für aerobe und für anaerobe Gärung — wiesen deutliche Abhängigkeit von dem verwendeten Substrat auf. Im Vergleich mit anderen gleichzeitig untersuchten pathogenen Bakterien nehmen die Diphtheriebakterien im Hinblick auf die geprüften Eigenschaften mit Ausnahme der Katalaseaktivität eine mittlere Stelle ein:

Tabelle

| Quotient | Minimum | Maximum | Dipththeriebakterien |
|---|---|---|---|
| Atmung = $QO_2$ | —8 Meningococcuss | —172 Ruhr Ohara-Mita | —68 |
| Aerobe Gärung = $Qg^{O_2}$ | 0 Meningococcuss | —221 Pneumococcus I | —36 |
| Anaerobe Gärung = $Qg^{N_2}$ | 0 Meningococcuss | —308 Pneumococcus I | —99 |
| Katalase Aktivität = QKat | 0 Ruhr Shiga | —9000 Diphtherie | —9000 |

In weiteren Versuchen untersuchten **Fujita** und **Kodama** (172) den Einfluß verschiedener Faktoren auf die Atmung und Gärung der Diphtheriebakterien. Sie fanden, daß: 1. Mit dem Altern der Kultur auf Blutagar die Atmungsgröße allmählich auf Null absinkt, und zwar in den ersten zwei Tagen langsam, und dann in weiteren 3—4 Tagen schneller. Im Eisschrank geht die Abnahme langsamer. Die Gärung der Glukose verhält sich ähnlich. 2. Optimales pH liegt für die Atmung und Glukosegärung zwischen 7,1 und 7,7. 3. Die Atmung nimmt mit der Temperatur bedeutend zu, und zwar umso mehr, je niedriger die Anfangstemperatur ist. 4. Von den Zuckern wird am leichtesten die Glukose veratmet und vergoren; Laktose, Saccharose und Pentosen sehr schwach. 5. Von den organischen Säuren und Alkoholen veratmen die Diphtheriebakterien nur Brenztraubensäure, Milchsäure, Glyzerin und Glyzerinphosphorsäure vollkommen, Essigsäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure in viel kleinerem Ausmaß. Vergoren wird praktisch nur die Brenztraubensäure, und zwar unter Decarboxylierung. 6. Von den Aminosäuren ist die Veratmung des Asparagins und der Glutaminsäure am größten. Auch das Zystein wird veratmet. Es verstärkt auch die Veratmung anderer Substanzen in der synthetischen Lösung. 7. Die Atmung und Gärung sind bei den Diphtheriebakterien durch Monojodessigsäure schon in einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ mol bis zu 50 % gehemmt. Die Fluoride hemmen die Glukosevergärung bei den Diphtheriebakterien nicht.

Von anderen Forschern untersuchten **Silberstein** und **Rappaport** (184) den respiratorischen Stoffwechsel bei den Diphtherie- und Xerosebakterien und fanden dabei deutliche und charakteristische Unterschiede. **Schapiro** (182) hat die Atmung der Diphtheriebakterien in jungen Kulturen in einer Warburgschen Apparatur verfolgt und fand dabei, daß die Atmungsgröße für einzelne Stämme ziemlich konstant ist. Beim Altern der Kulturen sinkt die Atmung in 2—3 Tagen auf die Hälfte, wahrscheinlich unter dem Einfluß der angefallenen Stoffwechselprodukte. Typ Gravis atmet ca. 2,5 bis dreimal stärker als Mitis. Stamm Park-Williams Nr. 8 atmet 5—5,5 mal stärker als gewöhnlicher Mitis.

Als H-Acceptor können die Diphtheriebakterien (ebenso die Pseudodiphtheriebakterien) auch die Nitrat-Ionen verwenden (**Ehrismann** (167, 168)), die dabei zu Nitriten reduziert werden. Diese Reaktion spielt sich mit einer meßbaren Geschwindigkeit nur unter dem Ausschluß des Sauerstoffs, bei pH kleiner als 6,0 ab und wird durch das Zystin deutlich verstärkt. Die begünstigende Wirkung des Zystins hat aber ein anderes pH-Optimum = 7,6. Die Reaktion ist ziemlich eng spezifisch im Hinblick auf die dabei beteiligten H-Donatoren: nur Alanin und Asparagin werden dabei in Anwesenheit des Zystins, von den stickstoffreien Substanzen aber nur Laktat dehydriert.

Die Nitratreduktion wird durch HCN und CO gehemmt, was auf eine Beteiligung der eisenhaltigen Katalysatoren hinweist. Bei den streng aeroben Pseudodiphtheriebakterien ist die Fähigkeit, Nitrate zu reduzieren, in stärkerem Maße ausgebildet. Die reduktionsfördernde Wirkung des Zystins hat dagegen nur bei Diphtherie- und nicht bei Pseudodiphtheriebakterien Gültigkeit.

Einen weiteren H-Acceptor bei der Atmung der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien hat **Ehrismann** (169) im **Pyozyanin** gefunden. Er untersuchte die Pyozyaninhydrierung einerseits durch Azetonextrakte aus verschiedenen Bakterienarten, andererseits durch ungewaschene Suspensionen der untersuchten Keime. Dabei ist es ihm gelungen mit Sicherheit festzustellen, daß die Azetonextrakte über eine viel engere H-Donatorenspezifität verfügen und praktisch nur Laktat als H-Donator verwenden. In Versuchen nach dem Verfahren von **Thunberg** zeigen die ungewaschenen Bakterien unter anaeroben Bedingungen eine viel breitere H-Donatorenspezifität als die Azetonextrakte. Interessant ist dabei zu beobachten, daß die beiden zentralen Körper in dem Zellstoffwechsel — Brenztraubensäure und Bernsteinsäure — von den intakten Diphtheriebakterien nur mit $O_2$ als H-Acceptor, dehydriert werden. Bei Verwendung von Nitraten, als H-Acceptor, wird keine von diesen Säuren, in Anwesenheit von Methylenblau und Pyozyanin nur die Bernsteinsäure dehydriert. Das Pyozyanin mit seinem Redox-Normalpotential = —0,034 Volt liegt in der Nähe des Neutralitätspunkts der Redoxskala ($E_h$ = $\pm$ 0,000 Volt) und des Normalpotentials des Methylenblau ($E_h$ = + 0,011 Volt) (**W. Kollath** (178)). HCN hemmt die $O_2$-Atmung mit und ohne Pyozyanins was darauf hindeutet, daß das Pyozyanin hier in den H-Transport irgendwie nebengeschaltet ist.

In einer weiteren Arbeit untersuchte **Ehrismann** (170) die oxydoreduktiven Leistungen der Diphtheriebakterien mit Hilfe verschiedener Farbstoffe aus der Gruppe der Redoxindikatoren nach **Clark**, und zwar in Anwesenheit von nur zelleigenen H-Donatoren, sowie nach dem Zusatz von Laktat oder Succinat. Dabei fiel ihm eine gewisse Parallelität zwischen der Reduktionsgeschwindigkeit und der Lage des Reduktionspotentials des betreffenden Indikators in der Redoxskala auf. Am schnellsten wurden diejenigen Indikatoren reduziert, deren Potentiale in der Nähe des Neutralitätspunkts der Redoxskala oder auf ihrer positiven Seite liegen. Es wurden aber auch bei einigen Farbstoffen Abweichungen beobachtet, die einerseits mit ihrer chemischen Konstitution (besonders bei Indigosulfonaten) im Zusammenhang stehen, andererseits aber auf ihre ungenügende Wasserlöslichkeit zurückzuführen sind. Die Reduktion der Redoxfarbstoffe erwies sich als völlig CN-unempfindlich und wenig spezifisch im Hinblick auf die zutreffenden H-Donatoren. Zystin spielt auch bei diesen Prozessen die Rolle eines Katalysators, aber nur für Indikatoren mit genügend positivem Potential.

**Tabelle II.**

Vergärung verschiedener Kohlehydrate durch Corynebakterien verschiedener Arten und Typen.

| Verfasser | Grundsubstrat %/o des Zuckers Indikator | Keimart bzw. Keimtyp | Polysaccharride | | | | Di-Saccharide | | | Mono-Saccharide | | | | | | | Alkohole | | | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | St | Gg | Dn | Rf | M | S | L | D | F | Gt | Ms | Rh | X | Ar | Mn | Sb | Sz | Gz | In | Gm | |
| Martin (1898) 224 | Bouillon; Lackmus | Di | | | | — | — | + | — | + | + | + | | | | | | | | + | | | |
| Knapp (1905) 218 | | Di<br>Xerosis | | | +<br>— | | +<br>+ | —<br>+ | | +<br>+ | | | | | | | | | | | | | |
| Smith, G. (1907) 242 | | Di<br>Xerosis | | | +<br>· | | +<br>· | —<br>+ | (+)<br>· | +<br>(+) | +<br>(+) | +<br>· | | | | | | | | +<br>(+) | | | |
| Rothe (1907) 238 | | Di<br>Pseudo<br>Xerosis | | | | | (+)<br>—<br>— | —<br>—<br>— | —<br>(+)<br>— | +<br>(+)<br>— | +<br>(+)<br>— | | | | | | | | | | | | |
| Lubenau (1908) 221 | | Di und Diphtheroide | | | + | | + | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | S, L und F erst nach 3—4 Tagen vergoren |
| Neißer (1913) 227 | | Di<br>Diphtheroide | | | | | | | | +<br>(—) | +<br>(—) | | | | | | | | | | | | |
| v. Riemsdijk (1915) 235 | Peptonwasser pH-7,6; 1%/o Lackmus | Di virul<br>Di avirul | | | | | | 9/10<br>5/5 | | 9/10<br>5/5 | | | | | | | | | | | | | D wird ohne Gasbildung vergoren |
| Durand (1922) 199 | | Typ I<br>Typ II<br>Typ III—V | | | +<br>·<br>+ | | +<br>·<br>+ | ·<br>+<br>· | | | | (+)<br>+<br>+ | | | | | | | | ·<br>·<br>+ | | | |
| Bitter, Gundel, Sancho (1923) 191 | Peptonwasser 1%/o Chinablau | Di | | | | | + | — | | + | + | | | | | | | | | | | | |
| Engering (1923) 200 | Thiel-Lösung; Lackmus | Di<br>Pseudo | | | | | | | | 27++<br>27++ | | | | | | | | | | | | | Bei den Pseudo- tritt die Säuerung erst viel später als bei Di ein |
| | Peptonwasser Lackmus | Di<br>Pseudo | | | | | +<br>11/47 | —<br>(+) | (+)<br>(+) | +<br>(+) | +<br>(+) | +<br>(+) | +<br>(+) | | | | | | | | | | |
| Pesch (1924) 230 | Peptonwasser; 1%/o; Lackmus | Typ Ia<br>Typ Ib<br>Typ II<br>Typ IIIa<br>Typ IIIb<br>Typ IV | | | | | (+)<br>(+)<br>—<br>·<br>·<br>— | —<br>—<br>—<br>+<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>·<br>·<br>— | +<br>+<br>—<br>+<br>(+)<br>— | +<br>+<br>—<br>·<br>·<br>— | —<br>(+)<br>·<br>·<br>·<br>· | | | | | | | | | | | Ia-tiervirulente, Ib-tieravirulente echte Di; II-Pseudo (Hoffmann); IIIa-Para-Di; IIIb-Diphtheroide; IV-Xerosis. Xerosis kann in der Thielschen Lösung D und S spalten |
| Hammerschmidt (1924) 205 | Bouillon; 1%/o; Lackmus | Haemolythische<br>Nicht haemolythische | | | | | | | | +<br>(+) | | | | | | | | | | | | | 53 haemolythische und 8 nicht haemolithische Stämme der echten Diphtheriebakterien |
| Kliewe (1927) 217 | Peptonwasser Thiel-Lösung; 1%/o; Lackmus | Di: typisch<br>Minus A<br>Minus B<br>Minus-Plus A<br>Minus-Plus B | | | | | +<br>(+)<br>—<br>+<br>— | —<br>—<br>—<br>(+)<br>+ | | +<br>+<br>(+)<br>+<br>+ | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | | | | | | | | | | | | Di: typische Stämme — tiervirulent; Minusvarianten A und B, sowie die Minusplusvariante A-avirulent; bei Minusplusvariante B-1 Stamm ist virulent, 2 aber avirulent |
| | | Ps; typisch<br>Minus A<br>Minus B<br>Minus C<br>Minus D | | | | | +<br>—<br>+<br>—<br>— | (+)<br>+<br>(+)<br>+<br>— | | (—)<br>—<br>—<br>(—)<br>— | +<br>+<br>—<br>—<br>— | | | | | | | | | | | | Alle Ps-Stämme sind für die Tiere nicht virulent. Minusvariante D-Xerosis |
| Mannsheim (1930) 222 | Peptonwasser; Lackmus | Di 88 Stämme | | | | | 67/88 | 16/88 | | + | + | + | | | 78/88 | | 16/88 | | | | | | 16 Stämme vom Typ S+, Mn+ sind die Para-Di (9 aus inneren Organen) |
| Ghio (1931) 202 | | Di<br>Pseudo | | | +<br>— | | +<br>— | (+)<br>— | (+)<br>— | +<br>— | +<br>(+) | +<br>— | | | | | —<br>— | | | +<br>— | | | Maximum der Säurebildung bei Di: D- 2 Tage; F, Dn, M- 4 Tage; Gt, Gz- 12 Tage |
| Anderson und Mitarbeiter (1931/33) 188 | | Gravis<br>Interm.<br>Mitis | +<br>—<br>— | +<br>—<br>— | +<br>·<br>(+) | | +<br>+<br>+ | —<br>—<br>— | | +<br>+<br>+ | | | | | | | | | | | | —<br>·<br>+ | |
| Costa, Troisier, Dauvergue (1918) 197a | Koagul. Serum; Lackmus | Di<br>Pseudo<br>B. entis communis | | | | | +<br>—<br>+ | —<br>—<br>+ | —<br>—<br>· | +<br>—<br>+ | +<br>—<br>+ | | | | | | | | | | | | |
| Brückner (1934) 194 | Nutrose-NaC1-Lösung; 1%/o; Lackmus | Di<br>Para-Di<br>Pseudo | | | | | +<br>+<br>— | —<br>+<br>— | | +<br>+<br>— | +<br>+<br>— | | | | | | | | | | | | |
| Whitley (1935) 249 | | Di-III St. | 7/III | 7/III | + | | + | — | | | + | | | | | | | | | | | | |
| Perry, Whitley u. Mitarb. (1936) 228 | Bouillon | Gravis<br>Interm.<br>Mitis | 41/50<br>—<br>3/132 | 33/50<br>—<br>— | +<br>+<br>+ | | | —<br>—<br>— | | +<br>+<br>+ | | | | | | | | | | | | | |
| Preuner (1936) 233 | Bouillon; 1%/o; Lackmus | Gravis<br>Interm.<br>Mitis<br>Para-Di<br>Diphtheroide<br>Pigmentbildner<br>Pseudo | +<br>—<br>—<br>—<br>—<br>—<br>— | | | | +<br>+<br>+<br>—<br>—<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>+++<br>—<br>—<br>— | | ++<br>++<br>++<br>+++<br>(+)<br>(+)<br>— | | | | | | | | | | | | | |
| Preuß (1936) 234 | Ascitesagar 1%/o; Trübung | Di<br>Pseudo | | | | | | | | 98,3%+<br>1,0%+ | | | | | | | | | | | | | |
| Mittag (1937) 225 | | Intermedius | — | | | | | — | | + | + | | | | | | | | | | | | Tellurit schwach reduzierende Stämme |
| Henneberg u. Pels-Leusden (1937) 206 | Braunsche synthetische Lösung; 1%/o; Phenolrot Chinablau; Indikatoren nach Michaelis; Elektrometrie | Gravis<br>Interm.<br>Mitis<br>Pseudo (Mensch)<br>Pseudo (Kuh) | +<br>—<br>—<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>—<br>— | +<br>—<br>—<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>—<br>— | +<br>—<br>+<br>—<br>+ | —<br>—<br>—<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>—<br>— | +<br>—<br>+<br>—<br>+ | +<br>—<br>+<br>—<br>— | +<br>—<br>+<br>—<br>+<br>8888 | | —<br>—<br>—<br>—<br>(+) | — | +<br>+<br>+<br>+<br>— | (+)<br>(+)<br>(+)<br>—<br>(+) | —<br>—<br>—<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>—<br>(+) | (+)<br>(—)<br>(+)<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>—<br>— | | Maximum der Säurebildung im Durchschnitt: a) in Braunscher Lösung: D, M, Gt- 1 Tg., F, Mn, St, Dn- 3 Tage, Gz- 4, Ar- 6 Tage; b) Autolysate: D, S-2; F, Gg, Ar, Sb, Sz, Mn, M-4; Rh, Rf-5 Tage |
| | Autolysate der Bakterienzellen (Toluol); Lackmus | Gravis<br>Iterm.<br>Mitis<br>Pseudo (Mensch)<br>Pseudo (Kuh) | +<br>—<br>—<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>—<br>— | +<br>—<br>—<br>—<br>— | (+)<br>(+)<br>(+)<br>(+)<br>(+) | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | —<br>—<br>—<br>—<br>— | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | | (+)<br>(+)<br>(+)<br>(+)<br>(+) | | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | (+)<br>(+)<br>(+)<br>(+)<br>(+) | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | +<br>+<br>+<br>+<br>+ | —<br>—<br>—<br>—<br>— | —<br>—<br>—<br>—<br>— | | |
| Warnecke (1940) 247 | Peptonwasser 1%/o; Lackmus | Gravis<br>Interm.<br>Mitis | +<br>—<br>— | | +<br>—<br>— | | | —<br>—<br>— | | +<br>+<br>+ | | | | | | | | | | | | | |
| Hohn (1941) 210 | Hottinger-Bouillon od. Trypsinpepton wasser; 1%/o; Wasserblau | Gravis<br>Interm.<br>Mitis<br>Pseudo | +<br>—<br>—<br>— | | | | | —<br>—<br>—<br>— | | +<br>+<br>+<br>— | | | | | | | | | | | | | |
| Groß (1943) 203 | Bouillon; 1%/o | Gravis<br>Para-Di | | | | | 81/94<br>1/47 | | | | | | | | | | | | | | | | |

Abkürzungen: Di—Diphtheriebakterien; Pseudo—Pseudodiphtheriebakterien; Para-Di—Paradiphtheriebakterien; bei Kliewe—Minus- u. Plus-Minus- und Plusvarianten; St—Stärke; Gg—Glykogen; Dn—Dextrin; Rf—Raffinose; M—Maltose; S—Saccharose; L—Laktose; D—Dextrose; F—Frukotose; Gt—Galaktose; Ms—Mannose; Rh—Rhamnose; X—Xylose; Ar—Arabinose; Mn—Mannit; Sb—Sorbit; Sz—Salizin; Gz—Glyzerin; In—Inulin; Gm—Glukosamin; +++, +++, +, — verschiedene Grade der Zuckerspaltung; (+) — Spaltung bei der Mehrzahl der geprüften Stämme; (—) — nur wenige Stämme vergären; —— keine Vergärung; . — nicht geprüft; 81/94 — von 94 geprüften Stämmen vergären 81.



Durch diese Arbeiten von **Ehrismann, Fujita** und **Kodama** u. a. angeregt, untersuchten wir zusammen mit **Rueßbült (Tarnowski** und **Rueßbült** (184)) die Hydrierung des Methylenblaus durch Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Wir fanden, daß einzelne Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien-Stämme große individuelle Unterschiede hinsichtlich der Geschwindigkeit der Entfärbung einer gewissen Menge Methylenblaus ($2 \cdot 10^{-7}$ Mol. pro $1—2 \cdot 10^9$ Keime) in Anwesenheit von $1 \cdot 10^{-4}$ Mol Na-Laktats als H-Donator aufweisen. Typ- bzw. artgebundene Gesetzmäßigkeiten wurden dabei nicht beobachtet. Bei den mit phosphatgepufferter NaCl-Lösung gewaschenen Keimen trat eine Hydrierungsverlangsamung ein, die durch Zugabe von Waschwässern, sowie von sterilen Auszügen aus Löfflerserum, gewöhnlichem Nähragar und von einer sterilen Braunschen Nährflüssigkeit wieder verschwand. Diese Aktivität verschiedener Zusätze wurde als von der Individualität des Stammes, dem Züchtungsmedium und der Vorbehandlung des Stammes abhängig gefunden.

Die Methylenblaureduktion gewaschener Diphtheriekeime wurde durch Vergiftung mit Phenylurethan und 1 : 2 : 4 : 6 Trichlorphenol in Mengen von $1 \cdot 10^{-7}$ bis $1 \cdot 10^{-6}$ Mol pro $1 \cdot 10^9$ Keime deutlich gehemmt, was durch Vergiftung der Apodehydrasen bzw. der Flavinzwischenfermente der Bakterien zu erklären versucht wurde. Das Verhalten der Methylenblaureduktion durch Diphtheriebakterien den KCN-Lösungen gegenüber hatte ein wechselndes Bild gezeigt. Gewisse KCN-Konzentrationen wirkten reduktionsfördernd, andere wieder (größere, sowie die kleinere) bei manchen Stämmen hemmend.

Die zukünftige Forschung muß die einzelnen bei diesen Vorgängen teilnehmenden Fermente und deren Komplexe isolieren und in Modellversuchen ihr Zusammenwirken überprüfen. Nach **L. F. Hewitt** (176) sind die Reduktionsfähigkeiten der Diphtheriekulturen bei reichlicher Sauerstoffzufuhr stärker als die der Streptokokkenkulturen entwickelt. In der Bakterienwachstumsphase steigt ihr Redoxpotential logarithmisch an, um sich später auf einem gewissen Niveau zu stabilisieren.

Von einer hervorragenden Bedeutung für die bakteriologische Diphtheriediagnostik sind die Reduktionsvorgänge, die sich an den Tellurit-Ionen abspielen. Die Tellurite sind dabei irreversibel bis zum schwarzen elementaren Tellur reduziert, was als Schwärzung der Diphtheriekolonien auf einem festen Nährboden oder Bildung eines grau-schwarzen Niederschlags in den Nährflüssigkeiten sichtbar wird. Dieser Vorgang hat eine gewisse Ähnlichkeit mit der Nitratreduktion. Er wird durch die Anwesenheit des Zystins oder Zysteins deutlich verstärkt. Als erster hat **Klett** (177) die Reduktion der Selenite, Tellurite, Selenate, Sulfate und Phosphate durch verschiedene pathogene und saprophytische Bakterien untersucht und dabei festgestellt, daß die Fähigkeit, Selenite und Tellurite zu reduzieren, allen geprüften Bakterienarten zukommt. Die Geschwindigkeit der Reduktion, sowie die höchste mit dem Keimwachstum verträgliche Salzkonzentration hängen von der Bakterienart, der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens, der Züchtungstemperatur usw. ab.

Die Diphtheriebakterien zeichnen sich durch eine starke Hemmbarkeit und die entsprechend schwächere Reduktionsfähigkeit den Seleniten gegenüber aus. Über die Beziehungen der Diphtheriebakterien gegenüber Telluriten wird nichts mitgeteilt. Die Reduktion der Selenite und Tellurite findet in der Bakterienzelle selbst statt, die die Salze aus dem Nährboden aufspeichert und nach ihrer Reduktion in und zwischen den Zellen anlagert. In den festen Nährböden tritt keine Färbung in dem Substrat außerhalb des Kolonienbereichs auf, woraus **Klett** auf das Fehlen der reduzierenden Wirkung der leicht diffusiblen Bakterienstoffwechselprodukte außerhalb der Zelle schließt.

Interessant und für die bakteriologische Diagnostik wichtig ist der Umstand, daß die Bakterien wahrscheinlich die Selenit- bzw. Telluritreserven in der nächsten Kolonienumgebung bald erschöpfen, so daß bei weiterem Wachstum rings um die

älteren schwarz bzw. rot gefärbten zentralen Teile der Kolonien ein farbloser Ring aus jüngeren, Se- bzw. Te-freien Individuen entsteht.

Selenate, Sulfate und Phosphate wurden von den geprüften Keimarten unverändert gelassen.

**Gosio** (175) erweiterte und bestätigte in einer umfassenden Arbeit die Befunde von **Klett**, indem er die Anwendung der Tellurite als eines Indikators für die Entdeckung von bakteriellen Verunreinigungen der Heilseren und Vaccine vorschlug. Dabei wies er noch auf das Auftreten neben dem schwarzen elementaren Tellur von verschiedenen braunen und violetten Tellurkomplexverbindungen im Laufe ihrer Reduktion hin. Er unterstrich das Vorhandensein eines engen Zusammenhangs zwischen den bakteriellen Lebensleistungen und der Telluritreduktion. Weder abgetötete Kulturen noch zellfreie Kulturfiltrate vermögen Tellurite zu reduzieren. Die Diphtheriebakterien besitzen nur eine mäßig starke Fähigkeit zur Reduktion der Tellurite, die von mehreren pathogenen und saprophytischen Keimen übertroffen wird.

**Gloger** (174) fand dagegen in seinen Versuchen, daß die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien die Tellurite nicht reduzieren können **(sic!)**, wenigstens nicht in der ersten Woche ihres Wachstums. Überhaupt weichen seine Befunde im Hinblick auf die Verbreitung dieser Eigenschaft bei Bakterien von denen **Kletts** und **Gosios** stark ab. **Gloger** beobachtete auch, daß die Telluritreduktion nur bei den Bakterien vorkommt, die auf den zusagenden Nährböden $H_2S$ zu entwickeln vermögen. Die Entstehung des schwarzen Niederschlags führt er auf die Bildung von TeS und nur zum Teil von elementaren Te zurück.

In unserer oben zitierten Arbeit **(Tarnowski** und **Rueßbült, 1. c.)** fanden wir, daß die Diphtherie- und Pseudodiphtheriekeime Tellurite und Selenite wahrscheinlich auf Kosten von wasserlöslichen zelleigenen H-Donatoren zu reduzieren vermögen. Nach dem Waschen der Keime trat eine Reduktionsverlangsamung ein. Die Reduktionsgeschwindigkeit stand in keinem eindeutigen Zusammenhang mit der Tellurit- bzw. Selenitkonzentration. Jedenfalls ist mindestens eine Konzentration von $7—10 \cdot 10^{-4}$ mol% des $K_2TeO_3$ bzw. $Na_2SeO_3$ notwendig, um eine sichtbare Schwärzung bzw. Rötung der Lösung hervorrufen zu können.

**H. E. Morton** und **F. Anderson** (179) glauben, mit Hilfe elektronenmikroskopischer Aufnahmen bei den auf dem tellurithaltigen Blutschokoladagar gezüchteten Diphtheriebakterien nicht nur die Polkörnchen, sondern auch gewisse danebenliegende nadelförmige schwarze Kristalle gesehen zu haben, denen sie eine Bedeutung bei der Telluritreduktion zuschreiben wollen.

Besonders in den letzten Jahren machte die Erforschung der sog. **Atmungskatalysatoren**, d. h. der Körper, die bei dem Transport des Wasserstoffs innerhalb des intermediären Zellstoffwechsels von den dehydrierenden H-Donatoren auf die betreffenden H-Acceptoren die Rolle der Übermittler spielen, recht ansehnliche Fortschritte (siehe z. B. bei **W. Franke** (126)). Es bestehen viele Wege sowie viele vermittelnde Zwischeninstanzen bei diesem Wasserstofftransport. Am nächsten zu dem H-Donator sind wahrscheinlich die **Dehydrasen**, deren prosthetische Gruppen (pyridinhaltige Nukleotide) den Wasserstoff vom Substrat übernehmen. Von Dehydrasen geht der Wasserstoff entweder auf ein anderes Produkt des Zellstoffwechsels über (Vergärung) oder wird über die zwischengeschalteten flavinhaltigen **Diaphorasen** (die auch bei dem erstgenannten Vorgang beteiligt sind) auf eine Kette häminartiger eisenhaltiger **Cytochrome** (a, b und c) übergeleitet. Vom Čytochrom kann der Wasserstoff noch nicht direkt zu einer Verbindung mit dem molekularen Sauerstoff übergehen, sondern nur unter Vermittlung des sog. **„roten Atmungsferments“** von **O. Warburg (Cytochromoxydase,** Indophenoloxydase).

Wir besitzen nur eine ganz lückenhafte und ungenügende Vorstellung, wie sich im einzelnen für verschiedene Zellarten, sowie für verschiedene H-Acceptoren und -Donatoren, diese Vorgänge abspielen. Es sind nur recht wenige Teilvorgänge in den künstlich in vitro zusammengestellten Modellanordnungen nachgeahmt. Wie sich die Sache in Wirklichkeit im Innern der Zellen abspielt, ist jetzt noch nicht zu übersehen. Welche Rolle dabei solchen Redoxsubstanzen, wie Glutathion, Ascorbinsäure, Adrenalin-Adrenochrom, verschiedene Bakterienpigmente (Pyozyanin, Prodigiosin u. a.), pflanzliche Chinone usw. zukommen kann, ist auch zur Zeit unbekannt. Trotzdem sind die bis jetzt gewonnenen Erkenntnisse auf diesem Gebiete schon sehr wertvoll; sie zeigen uns wenigstens die Richtung an, in der weiter geforscht werden muß und lenken unsere Aufmerksamkeit auf gewisse Körpergruppen, die dabei mitwirken können.

**Fujita** und **Kodama** (173) untersuchten die Cytochromspektra verschiedener pathogener Bakterienarten und teilten die untersuchten Keime je nach dem Aussehen der Spektren in sechs Gruppen ein. Die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien gehören gemeinsam zu der Gruppe IC und besitzen folgende Absorbtionsbänder des Cytochroms:

$$a = 6040 \text{ Å}, b = 5620 \text{ Å}, c = 5500 \text{ Å}, d_1 = 5320 \text{ Å und } d_2 = 5220 \text{ Å}.$$

Die Atmung der Diphtheriebakterien wurde durch $1 \cdot 10^{-3}$n-Lösung des KCN um 20 %, die der Pseudodiphtheriebakterien um 10 % gehemmt. Auf Blutagar gezüchtet und in einer phosphatgepufferten NaCl-Lösung suspendiert, erwiesen sich diese Keime gegenüber dem KCN relativ unempfindlich. So hemmt die Atmung der Diphtheriebakterien (bei der Konzentration von 95 % in dem umgebenden Gasraum) nur um 2 %, der Pseudodiphtheriebakterien um 18 %. Durch Belichtung dieser CO-vergifteten Keime tritt nur eine ganz geringfügige Entgiftung und Steigerung der Atmung ein. Daraus ziehen die Autoren den Schluß, daß bei den Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien die Sauerstoffatmung hauptsächlich nicht über die eisenhaltigen, CN- und CO-empfindlichen Katalysatoren verläuft, sondern sich auf anderen Wegen abspielen muß. Weiter ist für die Frage der Rolle der eisenhaltigen Atmungskatalysatoren bei den Diphtheriebakterien die Arbeit von **H. Braun** und **Guggenheim** (165) von Bedeutung. Die Entwicklung der Diphtheriebakterien im Hochschichtagar ohne Fleischwasser und Zucker ist schon bei dem Zusatz von 0,5—$1 \cdot 10^{-2}$ Mol KCN völlig gehemmt.

Diese Befunde stehen in einem gewissen Widerspruch zu den Ergebnissen von **Fujita** und **Kodama** und deuten auf die Notwendigkeit hin, die Individualität der Stämme, sowie ihre Züchtungsbedingungen bei solchen Versuchen zu berücksichtigen.

Bei Anwendung von verschiedenen CN-Konzentrationen werden das aerobe und anaerobe Wachstum der Diphtheriebakterien verschieden stark beeinflußt. $1 \cdot 10^{-2}$ Mol KCN hemmen das Wachstum der Diphtheriebakterien im Hochschichtagar aerob und anaerob, d. h. auf der Oberfläche und im Innern der Agarsäule. Von $4 \cdot 10^{-3}$ Mol ab erscheint in der Tiefe des Agars — ungefähr 15 mm unter der Oberfläche — ein ringförmiges Wachstum, das sich bei noch kleineren Konzentrationen nach oben ausbreitet. Bei $1 \cdot 10^{-3}$ Mol erreicht manchmal das Wachstum schon die Oberfläche des Agars.

Anaerob gezüchtete, CN-vergiftete Diphtheriekeime erhalten sich noch 4—5 Tage am Leben, während die aerob gezüchteten und dann mit KCN vergifteten in dieser Zeit zugrunde gehen. Im sauren Milieu ist die KCN-Wirkung stärker als im alkalischen ausgeprägt.

Über das Vorkommen anderer Atmungskatalysatoren (Dehydrad-Flavinfermente) bei den Diphtheriebakterien wissen wir zur Zeit gar nichts. Weitere Arbeiten auf diesem Gebiet sind sehr erwünscht, da sie uns dem Verständnis der fundamentalen Lebensvorgänge dieser Keime viel näher bringen werden.

### 3. Kohlehydratvergärung.

Die Vergärung verschiedener Kohlehydrate durch Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien wurde schon seit den ersten Anfängen der Erforschung dieser Keime zu ihrer Differenzierung herangezogen. Hierin liegt die große praktische Bedeutung dieses Zweiges der Biochemie der Diphtheriebakterien.

Die fermentative Tätigkeit jeder Zellart ist dem Einfluß von mannigfaltigen Faktoren des Milieus unterworfen ($T^0$, pH, Substratkonzentration, verschiedene Aktivatoren und Hemmstoffe, Zusammensetzung des Nährmilieus usw.). Die jeder Bakterienart sowie -typ innewohnenden enzymatischen Aktivitäten können bei ungeeigneten Milieubedingungen kaum oder gar nicht erscheinen, unter anderen wiederum voll entwickelt sein. Deshalb ist die von **Karström** vorgeschlagene Einteilung der Fermente in **konstitutive** und **adaptive** nicht immer eindeutig durchführbar. Eigentlich dürften zur Differenzierung einzelner Bakteriengruppen nur solche fermentative Leistungen verwendet werden, die **unter allen Umständen** bei den betreffenden Keimen vorhanden sind oder fehlen. Und solche absoluten Kriterien gibt es, besonders bei einer so leicht variierenden Keimgruppe, wie die Corynebakterien sicher nicht. Das tritt besonders deutlich hervor, wenn man von groben, rein qualitativen Indikatormethoden zu den feiner arbeitenden, auch kleinere Säuremengen erfassenden titrimetrischen Methoden übergeht.

Zahlreiche Forscher haben sich deshalb im Laufe der Zeit bemüht, die Verhältnisse auf diesem Gebiete zu klären und durch die Festlegung möglichst einheitlicher Versuchsbedingungen die Grundlage zum Vergleich diesbezüglicher Leistungen einzelner Arten und Typen bei den Corynebakterien zu schaffen.

Die dabei gewonnenen Ergebnisse sind zum größten Teile in den Tabellen II und III zusammengestellt.

Die bei diesen Arbeiten erkannten Faktoren, die das Endergebnis — die Keimdiagnose — beeinflussen können, sind die folgenden:

1. **Natur des zu prüfenden Kohlehydrats.** Fast alle bei solchen Vergärungsversuchen gebrauchten Zucker und mehrwertigen Alkohole kommen als chemisch reine, gut definierte Handelsprodukte zur Verwendung, so daß bei ihnen die Bezugsquellen und etwaigen Sortenverschiedenheiten keine Rolle spielen. Nur bei zwei Polysaccharid-Stärkeformen und ihren Abbauprodukten (Dextrinen) bringt die chemische Uneinheitlichkeit der verschiedenen Handelssorten einen gewissen Unsicherheitsfaktor mit sich.

**Anderson, Cooper, Happold** und **MacLeod** (187), die als erste den stärkespaltenden Typ Gravis von den beiden anderen — Mitis und Intermedius — abgetrennt hatten, haben auch festgestellt, daß Gravis in gleichem Maße die Mais-, Weizen-, Reis- und Kartoffelstärke vergären kann. Die Art der Sterilisation der stärkehaltigen Lösungen, sowie der eventuelle Phosphatpufferzusatz ändern auch gar nichts daran. Aber schon diese Autoren weisen darauf hin, daß eine zu stark mit Säure behandelte Stärke, die zu viele niedermolekulare Abbauprodukte enthält, auch von Mitis und Intermedius gespalten wird.

**K. Schlirf** (239) empfahl zuerst die lösliche Stärke nach **Zulkowski**, die nach ihm von Intermedius und Mitis nicht in nennenswertem Maße gespalten werden sollte. **J. Hohn** (209) hat aber beobachtet, daß die Zulkowski-Stärke in nährstoffreichen Substraten (Ascites-Bouillon- bzw. Agar) auch von Mitis (etwas träger und weniger von Intermedius) angegriffen wird und zwar ebenso stark wie das **Amylum solubile Merck.** Außerdem kommen nach diesem Autor auch solche Gravisstämme vor, die (besonders bei etwas größerem Trypsinpeptongehalt in der Nährlösung) diese Stärke sehr schwach bis gar nicht zu vergären vermögen.

In einer späteren Arbeit teilt **Schlirf** (240) die autoritative Meinung **Prof. Staudingers** mit, wonach die Zulkowski-Stärke als Differenzierungssubstrat abgelehnt wer-

den muß. Sie ist zu uneinheitlich zusammengesetzt und enthält niedermolekulare Abbauprodukte, die auch von Intermedius sowie Mitis gespalten werden können. Als Ausweg wird die Benutzung von einheitlich zusammengesetztem Glykogen oder einer durch die Methanolfraktionierung von Ballaststoffen gereinigten Stärke empfohlen.

Wir haben mit **I. Rueßbült** (244) eine Anzahl von Handelssorten der löslichen und unlöslichen Stärke (Kartoffelstärke) auf ihre Vergärbarkeit durch die Typen Gravis, Intermedius und Mitis untersucht und dabei gefunden, daß für die praktischen Zwecke einige handelsübliche Typmuster von unlöslicher Stärke brauchbar sind. Bei den meisten löslichen Stärkesorten rief Intermedius eine deutliche Säuerung hervor.

2. **Kohlehydratkonzentration.** Die Konzentration der zu untersuchenden Lösung an Kohlehydraten beeinflußt in gewissen Grenzen die Höhe der Säureproduktion. So sah **Lubenau** (221), daß in einer zweiprozentigen Glukoselösung etwas mehr Säure als in der einprozentigen gebildet wird. Dagegen sind die Unterschiede zwischen zwei- und zehnprozentigen Lösungen kaum zu beobachten. Nach **Henneberg** und **Pels-Leusden** (206) spaltet Gravis die Stärke unter gleich starker Säurebildung in 0,5 % sowie in dreiprozentiger Lösung.

Besonders eingehend hat dieses Problem **H. Hompesch** (213) untersucht. Er fand, daß bei den niedrigeren Glukosekonzentrationen (0,1—1,0 %) eine deutliche Abhängigkeit zwischen dieser Größe und der Säurebildung durch Diphtheriekeime besteht. In 24 Stunden bildet z. B. der Typ Intermedius in der einprozentigen Glukoselösung viermal soviel Säure als in einer 0,1prozentigen. Bei höheren Glukosekonzentrationen (1—10 %) sind aber die Säuerungswerte einander so ähnlich, daß ihre Unterschiede kaum die Fehlerbreite der Methodik überschreiten.

3. **Grundnährsubstrat.** Noch **Th. Smith** (1893) und **Spronck** (1895) wiesen auf die Bedeutung des Grundnährbodens für den Ausfall der Zuckervergärungsversuche bei der Diphtheriediagnostik hin. Die einfachen Fleischwasserbrühen enthalten zu viel von vergärbarem Muskelzucker, so daß die durch seine Spaltung hervorgerufene Säuerung des Nährbodens das eigentliche Bild der Vergärung des zugesetzten Zuckers verwischt. Die Versuche, den Muskelzucker durch Vorvergärung mit Colibakterien zu entfernen, müssen als mißlungen betrachtet werden, da bei solcher Prozedur der Nährwert des Substrats selbst erniedrigt ist.

Als einen entscheidenden Fortschritt in dieser Richtung muß die Einführung von Peptonsubstraten durch **Lubenau (l. c.)** und **M. v. Riemsijk** (235) bezeichnet werden. Man arbeitete eine Zeit lang mit einprozentigen Peptonlösungen, die 0,3—0,5 % NaCl, 5—8 % Lackmus und 1—2 % Zucker enthielten. **Schlirf** (239) verbesserte die Pufferung dieser Lösung durch den Zusatz von Phosphat, später (241) erhöhte er ihren Nährwert durch 10 % Ascites.

**J. Hohn** (210) benutzte in Anlehnung an seine in der TPE-Gruppe gesammelten Erfahrungen eine aus Stierhoden gewonnene Hottinger-Bouillon, die nach ihm auch durch eine Stierhoden-Trypsinpeptonlösung mit Erfolg ersetzt werden kann. Im Notfall kann man nach seiner Meinung mit einer Phosphatpeptonlösung auskommen. In der Trypsinpeptonlösung, die Glukose enthält, tritt die erste Säuerung schon drei (in Hottinger-Bouillon sogar zwei) Stunden nach der Beimpfung ein.

Von einer besonderen Wichtigkeit für die Stärke und Schnelligkeit der betreffenden Zuckervergärung ist die Art und Menge der in dem Grundsubstrat vorhandenen N-Quellen. Noch **Jacobsen** (215) hat gezeigt, daß die Säurebildung durch Diphtheriebakterien in glukosehaltiger Bouillon von ihrer Zusammensetzung abhängt und durch Peptonzusatz erhöht werden kann. **Boehnke** (192) sah, daß die Ammoniakbildung durch Diphtheriekeime in der Bouillon in Zuckeranwesenheit um 50 % vermindert ist.

In unserer oben zitierten Arbeit mit **Rueßbült** fanden wir, daß die Säurebildung durch Diphtheriekeime aus Glukose am ausgiebigsten in der Hohn'schen Trypsinpeptonlösung erfolgt, während das Schlirf'sche Peptonwasser, Hottinger-Bouillon und Thiel-Larosanlösung in dieser Hinsicht ihr etwas nachstehen.

Auch **A. Leinbrock** (220) sowie **H. Hompesch** (214) betonen die große Bedeutung der N-Quellen bei der Zuckervergärung durch Diphtheriebakterien. Der letzte Autor fand, daß das Hefeextraktwasser und die Aminosäure-Peptonlösung nach **Leinbrock** für die Kohlehydratspaltung bei allen Diphtherietypen zu kleine Werte ergeben. Bei den anderen vier geprüften Grundsubstraten treten gewisse spezifische Differenzen im Hinblick auf die Größe der Vergärung von Glukose und Stärke durch einzelne Diphtherietypen auf. Beim Ascitezusatz gleichen sich diese Unterscheide aus. Der Typ Intermedius stellt besonders hohe Ansprüche an das Grundsubstrat. (Vielleicht spielt die p-Aminobenzoesäure eine gewisse Rolle dabei.)

Dieser letzte Umstand bildet einen gewissen Fingerzeig für die Erklärung der Zusammenhänge zwischen den N-Quellen und der Zuckervergärung durch die Diphtheriebakterien. Es scheint, daß letztere der Stärke des Keimwachstums auf dem betreffenden Nährboden entspricht. Je üppiger sich die Keime entwickeln, desto günstiger sind die Bedingungen zur Entfaltung der bei der Gärung benötigten Fermente.

Andererseits werden die N-Körper in Anwesenheit von Zucker und anderen C-Quellen eingespart, so daß in Wirklichkeit der N- und Zuckerstoffwechsel noch enger miteinander verknüpft zu sein scheinen.

Von der rein technischen Seite ist es von Wichtigkeit, bei der Titration der in verschiedenen N-haltigen Nährböden anfallenden Gärungssäuren den Wert der in zuckerfreiem Grundsubstrat durch die geprüften Keime gebildeten Basen (Ammoniak, Amine u. a.) zu berücksichtigen. Diese basischen Körper, die bei dem Zerfall der N-haltigen Bestandteile des Grundsubstrats entstehen, können die bei der Zuckervergärung sich bildenden Säuren teilweise neutralisieren und dadurch zu niedrige Säurewerte vortäuschen.

Aus dieser Zusammenstellung ersieht man, wie kompliziert die Verhältnisse aui diesem Gebiete sind. Von einer weiteren eingehenden Analyse dieser Frage kann man die Aufklärung vieler auch diagnostisch wichtiger Fermentleistungen der Diphtheriebakterien erwarten.

In diesem Zusammenhange ist von Interesse, kurz auf die Frage des Zystins einzugehen. Man weiß, daß das Zystin für das Wachstum der Diphtheriebakterien unumgänglich notwendig ist. Man fragt sich nun, ob diesem Körper eine ebenso wichtige Rolle bei der Zuckervergärung durch Diphtheriebakterien zukommt. **W. O. Groß** (203) glaubt diese Frage bejahen zu dürfen. Er behauptet sogar, in der Fähigkeit der Paradiphtheriekeime zur Glukosespaltung ohne Anwesenheit des Zystins ein verläßliches Kriterium zur Differenzierung von den echten Diphtheriebakterien gefunden zu haben.

Aber noch **Henneberg** und **Pels-Leusden** (l. c.) beobachteten, daß die Zugabe von 0,001 % Zystin zum Nährboden auf die Säurebildung der Diphtheriebakterien (wenigstens aus Stärke) keinen Einfluß hat. Später haben **J. Burtscher** (195) sowie **W. Kalies** (216) in ihren Versuchen festgestellt, daß die echten Diphtheriebakterien auch ohne Zystinzusatz Glukose unter Säurebildung spalten können. Das Zystin kann diese Tätigkeit der echten Diphtheriebakterien beschleunigen, ist aber für die Glukolyse bei ihnen nicht unbedingt notwendig.

4. **Keimeinsaatgröße:** Es ist bekannt, daß sich für jede Keimart ein einem gegebenen Volumen des Nährbodens mit der Zeit eine Gleichgewichtslage einstellt, bei der die Zahl der durch Vermehrung neuentstehenden Keime die Zahl der absterbenden und sich auflösenden Zellen kompensiert. Dieser Zustand, der nach verschieden langer, von der Menge der eingeimpften Keime abhängiger Zeit erreicht wird, ist durch eine ziemlich konstante Keimkonzentration (Keimzahl pro Volumeneinheit) ausgezeichnet. Später beginnen die Absterbe- und Autolysevorgänge zu überwiegen, so daß die Keimzahl mehr oder weniger schnell abnimmt.

Trotz der Tatsache, daß die Größe der endgültig erreichten Keimkonzentration von der Keimeinsaatgröße nicht abhängig zu sein scheint, ist die Menge der am Anfang des Versuchs eingeimpften Keime für die Stärke und Schnelligkeit von verschiedenen physiologischen Keimaktivitäten nicht belanglos.

**J. Hohn** (212) hat empfohlen, zur Erzielung einer möglichst schnellen Säurebildung aus Kohlehydraten die Diphtheriebakterien in größerer Menge (eine volle Öse) in kleinerem Volumen der Nährlösung (1,5 anstatt 4 ccm) zu verreiben.

**H. Hompesch** (213) sah, daß bei Verwendung von kleineren Keimeinsaaten bei allen Diphtherietypen, besonders aber beim Intermedius, die Säurebildung aus Glukose deutlich verzögert und abgeschwächt ist. Bei Erhöhung der Einsaatmengen verschwinden die bei kleineren Einsaaten zu beobachtenden Unterschiede in der Stärke der Säurebildung aus Glukose, Fruktose, Mannit und Maltose durch Gravis-, Mitis- und Intermedius-Keime. Dies wird durch die stärkere Vitalität von größeren Inokula erklärt. Es handelt sich hierbei wahrscheinlich wiederum um die Wirkung von gewissen, in größeren Inokula in bedeutenderen Mengen vorhandenen Vitamine (p-Aminobenzoesäure) und Kofermente (Codehydrasen, Flavine, Häminkörper?).

Die Einsaatgröße spielt aber eigentlich nur an ersten Bebrütungstagen eine Rolle. Die Wachstums- und Vergärungsunterschiede verwischen sich im Verlaufe der Bebrütung.

Wir (l. c.) konnten mit **Rueßbült** in unseren Versuchen diese Befunde von **Hompesch** bestätigen und fanden die Einsaatmenge von ca. $1.19^9$ Keime pro 5 ccm Nährlösung als optimal.

5. Die absolute Menge der aus Kohlehydraten gebildeten Säure scheint von dem **Anfangs-pH** im Rahmen eines ziemlich breiten **pH-Optimums** (6,8—8,0) fast unabhängig zu sein. Für die titrimetrisch zu bestimmenden Säurewerte ist aber natürlich keineswegs gleichgültig, ob der Anfangs-pH = 7,3 oder 7,8 ist. Noch größer ist die Rolle des anfänglichen pH bei den Indikatormethoden, bei denen nicht so sehr die absolute Menge der bei Vergärung anfallenden Säure, als die durch sie bewirkten Veränderungen im Milieu-pH von Wichtigkeit sind. Je höher der Anfangs-pH des Milieus liegt, desto größer muß die Menge an gebildeter Säure sein, um einen bestimmten, durch den betreffenden Indikator zu erfassenden pH-Umschlagswert zu erreichen. Auf Grund unserer Erfahrung empfiehlt es sich, bei Verwendung von Wasserblau als Indikator den Anfangs-pH-Wert = 7,6 nach der alkalischen Seite nicht zu überschreiten.

6. **Keimeigenschaften:** Alle bisher besprochenen Momente betreffen zum größten Teil diejenigen Faktoren, die in dem umgebenden Milieu liegen. — Betrachten wir nunmehr den Einfluß der den Keimen selbst innewohnenden Qualitäten auf den Ausfall der Zuckervergärung.

a) **v. Riemsdijk** (l. c.) hat festgestellt, daß auch bei längerem Aufbewahren von Diphtheriekulturen in der Laboratoriumssammlung ihre Zuckervergärungskraft nicht besonders stark abnimmt, natürlich nur, wenn der Konservierungsnährboden den Keimen zusagt und für das regelmäßige Überimpfen auf frische Nährböden gesorgt ist (siehe auch **D. T. Robinson** (236)).

b) Wenn alle vorher besprochenen Bedingungen berücksichtigt sind, kann man auf Grund des Ausfalls der Prüfung auf ihre zuckerspaltenden Fähigkeiten die Corynebakterien in folgende **Gruppen** einteilen:

| Keimart bzw. -typ | Stärke | Glukose | Saccharose |
|---|---|---|---|
| Echte Diphtherie-Gravis | + | + | — |
| Intermedius | — | + | — |
| Mitis | — | + | — |
| Paradiphtherie | — | + | + |
| „Echte“ Pseudodiphtherie | — | — | — |

Es sind im Laufe der Zeit einige Abweichungen von dieser Regel beschrieben. So sind von mehreren Autoren (**H. O. Hettche** (209), **K. Schlirf** (239), **B. Warnecke** (247)

u. a. echte Diphtheriestämme gesehen worden, die durch ihre äußerst schwache Glukosespaltung ausgezeichnet sind — die sog. „**hypaziden**" **Diphtheriestämme**, die zum größten Teil dem Typ Intermedius angehören. Weiterhin sind noch von der Forschergruppe **von Anderson** und **Mitarb.** (187) mehrere Diphtheriestämme gefunden worden, bei denen die fermentativen Leistungen ihrem Koloniebild nicht entsprachen, und die somit zu keinem der bekannten Diphtherietypen eindeutig zugerechnet werden könnten. Solche Stämme wurden in der Folgezeit von verschiedenen Autoren gesehen und ihrer Typangehörigkeit nach verschiedentlich bewertet. Meistenteils wurden sie in der Gruppe der „**atypischen Stämme**" zusammengebracht und keinem Typ zugerechnet. So fand z. B. **K. Schlirf** (l. c.) einige Stämme, die die Stärke wie Gravis, Glukose aber kaum gespaltet haben. **A. Leinbrock** (l. c.) unterscheidet zwei Varianten vom Typ Mitis, von denen eine Stärke vergären kann, die andere aber nicht. **H. Großmann** (204) hat die Stämme beobachtet (fünf Stämme), die auf der Kartoffelglyzerinplatte nach **Clauberg** in einer Form, die eine Mittelstellung zwischen Gravis und Mitis einnimmt, wuchsen, aus Stärke aber die Säure nur sehr verzögert bildeten. **T. Martelli** (223) sah bei einem Mitisstamm (von 78) und bei zwei Intermedius (von 71) die Stärkevergärung, während bei 44 Gravis (von 155) diese Aktivität fehlte. 16 Stämme verhielten sich völlig atypisch.

**K. Bingel** (189) beschreibt folgende atypische Stämme:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 9 mal | — Koloniebild = Intermedius; | Vergärung = Mitis |
| 10 mal | — Koloniebild = Gravis ; | Vergärung = Mitis |
| 1 mal | — Koloniebild = Mitis ; | Vergärung = Gravis |
| 1 mal | — Koloniebild = Intermedius; | Vergärung = Gravis |

**E. Preuner** (231) hat die saccharosespaltenden Pseudodiphtheriebakterien gesehen, die keine Glukose spalteten (vgl. die Plusminusvarianten von **H. Kliewe** (l. c.).

Zu allen diesen und noch vielen anderen, hier nicht erwähnten, vom Typ abweichenden Diphtherieformen kann man, soweit sie nicht durch die Milieubedingungen, sondern durch die zelleigenen, „endogenen" Eigenschaften der Keime selbst bedingt sind, folgendes grundsätzlich bemerken:

Die Frage der Variabilität bei den einzelligen, sich ungeschlechtlich vermehrenden Mikroorganismen läßt sich sicher nicht nach denselben Prinzipien behandeln, wie bei den mehrzelligen, sich geschlechtlich vermehrenden Metazoen und Metaphyten.

Wir kennen bei den Bakterien keine Chromosomen, und wir wissen nicht, ob die bei ihnen beschriebenen Kernäquivalente irgendwelche Rolle bei der Entstehung von Genovariationen (Mutationen) spielen können. Wir wissen sogar nicht, ob solche Mutationen überhaupt bei den Bakterien vorkommen oder nicht.

Bei den höheren Organismen kann man nach dem heutigen Stande der genetischen Wissenschaft behaupten, daß die im Laufe des individuellen Lebens erworbenen Merkmale nur in dem Maße vererbbar sind, in welchem sie bestimmte Veränderungen in dem Genapparat verursachen können (spontane und induzierte Mutationen). Alle übrigen Variationen sind als nicht vererbbare Modifikationen des betreffenden Individuums zu betrachten.

Bei den Bakterien arbeiten wir zudem nicht mit den einzelnen Individuen, sondern mit mehr oder weniger homogenen vegetativ sich fortpflanzenden Keimpopulationen. Die **Einzel**kulturen könnten dann eventuell als eine Art von „Klonen" betrachtet werden.

Wenn wir bei einer gewissen Bakterienart die Abspaltung von einigen Varianten (etwa der S-R-Übergang, serologische Phasen, fermentative Abarten) feststellen, können wir mit unseren jetzigen Mitteln nicht entscheiden, ob es sich dabei um die Veränderungen der Bakterienerbmasse (echte Mutationen) oder nur um mehr oder weniger reversible Dauermodifikationen ihres Phänotyps handelt. Diese Dauermodifikationen können sich auf einige Generationen erstrecken und bei Abänderung ihrer Lebensbedingungen zu der Ausgangsform zurückkehren.

Für die diagnostische Praxis ist dabei die Frage von entscheidender Bedeutung, in welchem Maße die dabei verwertbaren Merkmale (Morphologie, Biochemie, Serologie) mit den für die Pathogenese bedeutsamen Keimeigenschaften gekoppelt sind. Es ist wichtig, zu wissen, ob die reversiblen oder irresersiblen Veränderungen der Merkmale der ersten Gruppe **(diagnostische Merkmale)** durch die entsprechenden Veränderungen der Merkmale der zweiten Gruppe **(pathogenetische Merkmale)** begleitet sind. Diese Frage ist bisher noch für keinen pathogenen Mikroorganismus eindeutig gelöst, weil wir über den Zusammenhang zwischen diesen zwei Merkmalsgruppen recht mangelhaft unterrichtet sind.

c) Nach diesen Bemerkungen können wir eine rein kasuistische Skizze einiger neuerer Versuche der Umwandlung von fermentativen Eigenschaften der Diphtheriebakterien geben. (Die umfassendere Literatur zu dieser Frage ist bei **R. Preuß** (234) sowie bei **K. Bingel** (189) zu ersehen.

**H. Dold (198), F. Weigmann** und **A. Koehn** (248) u. a. haben beobachtet, daß unter dem Einfluß des flüssigen, filtrierten, keimfreien **Menschenspeichels** die Gravisstämme ihre Fähigkeit, Stärke und Glukose zu vergären (Intermedius und Mitis — nur Glukose), irresersibel verlieren und sich in die stabilen, den Pseudodiphtheriebakterien (Typ Hoffmann) sehr ähnlichen Formen verwandeln.

**N. Erzin** (201) sah, daß bei langdauernder Züchtung von Gravisstämmen in einer Bouillon, der 5 % des 400-fachen Diphtherie-Heilserums „Behring" zugesetzt war, nach etwa 14 Passagen (in ca. fünf Monaten) die Abspaltung von schwach tierpathogenen, weniger lebensfähigen Varianten eintrat. Diese Keime haben ihre Fähigkeit, Stärke zu spalten, stark eingebüßt. Beim Übertragen dieser Varianten auf die immunserumfreie Bouillon kehrten sie sehr rasch zu ihrer ursprünglichen, stärkevergärenden Form zurück.

Auf Grund dieser Beobachtungen kritisierte **Erzin** die von **H. Christison, H. Wright** und **B. Shearer** (197) vorgeschlagene Unterteilung von Typ Gravis in vier Untertypen (je nach ihrer Stärkespaltung und Tiervirulenz) und hält diesen Typ für einen einheitlichen.

**J. F. Murray** (226) hat festgestellt, daß einzelne Mitisstämme durch Passagen durch Bouillon, der das Diphtherieheilserum oder normales Kaninchen- oder Meerschweinchenserum zugegeben wurde, die Fähigkeit der Stärkevergärung neuerwerben können. Der Zusatz des Menschen-, Rinder-, Pferde- und Hammelserums, sowie die Passagen durch Mäuse oder durch aktiv immunisierte Meerschweinchen oder Kaninchen waren in dieser Hinsicht ohne jede Wirkung.

**K. Pesch** (229) sah, daß die Einimpfung von Diphtherie- sowie von Pseudodiphtheriebakterien in die Hautmuskelwunde beim Meerschweinchen keine Veränderungen in ihren fermentativen Eigenschaften hervorrufen kann.

**R. Preuner** (232) konnte durch Passagen von typischen Gravis- und Intermediusstämmen durch die Schleimhaut von Rachen oder Vagina bei Ratten, sowie durch den Körper von Mäusen, Meerschweinchen und Affen ihre Abwandlung in Keime, die den Para- bzw. Pseudodiphtheriebakterien sehr ähnlich waren, erzielen. Denselben Effekt erhielt er durch Züchtung der Diphtheriekeime in der **Braunschen** synthetischen Nährlösung. Bei diesen Umwandlungen verlieren die Diphtheriebakterien ihre Fähigkeit, Glukose und Maltose zu spalten, erwerben manchmal aber die neue Fähigkeit der Vergärung von Saccharose.

### 7. Chemismus der Zuckervergärung durch Diphtheriebakterien.

Unsere Kenntnisse über den eigentlichen chemischen Mechanismus der Zuckerspaltung durch Diphtherie- und Paradiphtheriebakterien über die dabei beteiligten Fermente, ihre Aktivatoren und Hemmstoffe, über die Kinetik dieser Reaktionen, sowie über die einzelnen Teilvorgänge bei diesen sehr komplizierten enzymatischen Prozessen sind sehr lückenhaft.

**Fujita** und **Kodama** (172) fanden, daß bei der anaeroben Vergärung durch Diphtheriekeime aus 1 Mol Glukose —2,2 Aequivalent Säuren, hauptsächlich Ameisen- und Milchsäure, weniger Essig- oder Bernsteinsäure entstehen. Die Glukose wird durch den Zystinzusatz gesteigert, durch Monojodessig gehemmt.

**A. Tasman** und **A. C. Brandwijk** (246) vermuten auf Grund ihrer Versuche, daß sich die Glykolyse bei Diphtheriebakterien auf zwei verschiedenen Wegen abspielt. Einerseits wird die Glukose unter intermediärer Phosphorylierung in zwei Triosen gespalten, die sich über die oxydoreduktiven Reaktionsstufen zur Milch-, Essig-, Propion- und Ameisensäure umbilden. Einen anderen Weg soll die ohne vorhergehende Phosphorylierung stattfindende Spaltung von 1 Mol. Glukose in je einem $C_4$- und einem $C_2$-Körper darstellen, aus denen später Essigsäure, Äthanol und Bernsteinsäure entstehen sollen.

Nach **L. Birch-Hirschfeld** (190) bewirkt das Schütteln der Diphtheriekulturen (Gravis in 0—3 % Glukosebouillon; pH = 7,4), infolge der besseren $O_2$-Versorgung, einen viel stärkeren Bakterienmasseansatz und eine ausgiebigere Toxinbildung als in den unbeweglich brütenden Kulturen. Die Glukose wird in solchen Schüttelkulturen in 48—72 Stunden vollständig zu $CO_2$ verbrannt; aus 100 mg Glukose werden 136,5 mg $CO_2$ (theoretisch berechnet soll 133 mg) gebildet.

Die Säuerung des Nährbodens ist sehr prompt und stark (pH fällt in 24 Stunden auf 5,4); in zuckerfreier Bouillon kommt es in derselben Zeit zur starken Alkalibildung (bis pH = 8,4).

Beim Zuckerüberschuß ist die Säurebildung in ccm 0,02-n NaOH:

| | Gesamtsäure | Flüchtige Säure | Milchsäure |
|---|---|---|---|
| Geschüttelt, drei Tage alt | 12,2 ccm | 7 ccm | 2 mg % |
| Nicht geschüttelt, fünf Tage alt | 17,1 ccm | 11,5 ccm | 1—3 mg % |

Als flüchtige Säuren wurden Essig- und Ameisensäure gefunden. Bernsteinsäure konnte qualitativ (Pyrrhol-Reaktion) nachgewiesen werden.

Bei ihren Untersuchungen über den Chemismus der Stärkespaltung durch den Typ Gravis beobachteten **J. Leibowitz, Sh. Avinari-Shapiro** (219) daß: 1. die Gravis- und Mitiskeime (**lebende** Bakterienzellen) Glukose und Maltose vergären können, während das Glykogen ausschließlich von den Graviskeimen gespalten wird; 2. die **zellfreien, wässerigen Extrakte oder Autolysate** beider Typen das Glykogen zu gärfähigen Zuckern abbauen können; 3. an der Glykogenspaltung durch diese Bakterien die Intaktheit ihrer Zellen nicht wesentlich beteiligt ist. Die Autoren glauben, daß die Vergärung von Glykogen ohne seine vorherige enzymatische Hydrolyse wahrscheinlich phosphorolytisch, unter Beteiligung einer nur in den Gravis-Extrakten enthaltenen Phosphatase, erfolgen muß.

**J. Y. Sugg. W. D. Fleming** und **J. M. Neill** (243) haben in den Gefrierextrakten aus Diphtheriebakterien eine **Maltase** gefunden. Diese Extrakte greifen Glukose und Saccharose nicht an. Die Glukosespaltung ist nach diesen Autoren an die morphologisch intakten Diphtheriezellen gebunden, während die Maltase sich von den Bakterienzellen unter gewissen Umständen abtrennen läßt. In Bouillonkulturfiltrate geht sie aber nicht über.

Nach **F. DiChiara** (196) sezernieren die Diphtheriebakterien eine Analyse, die bei 65 °C und in einem schwach sauren Milieu ihr Optimum hat. Sie spaltet Weizen-, Reis-, Mais- und Kartoffelstärke zu Dextrinen, diese aber zur Maltose. Enzym wird durch NaF, $CaCl_2$, $CaSO_4$ und $Na_3AsO_4$ gehemmt.

## 4. Urease bei den Corynebakterien

1936 stellte **J. Püschel** (252) bei den Pseudodiphtheriebakterien (Typ Hofmann) die Fähigkeit zur hydrolytischen Harnstoffspaltung fest, die bei den echten Diphtheriebakterien fehlte. Diese Eigenschaft wurde als ein neues Differenzierungsmerkmal zwischen diesen zwei Keimarten angesehen und für den praktischen Gebrauch in den diagnostischen Laboratorien ausgebaut. **T. Wohlfeil** und **P. Weiland** (253) fanden, daß von den darauf geprüften 20 Pseudodiphtheriestämmen alle, von 81 echten Diphtheriebakterien sämtlicher drei Typen keinen Harnstoff spalteten. Als die notwendige Vorbedingung für eine erfolgreiche Untersuchung dieser Keime auf Urease bezeichnen sie die absolute Reinheit der Stämme. Im Vergleich mit sechs anderen Keimarten ist die Ureaseaktivität von Pseudodiphtheriebakterien als mittelstark zu bezeichnen.

**Kleinsorgen** und **Commichau** (250) haben eine Indikatorplatte mit Harnstoff zwecks praktischer Differenzierung der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien angegeben. Alle diese Befunde sind in der letzten Zeit durch **Warnecke, l. c. Preuner, l. c. Merkel** (251) u. a. nachgeprüft worden. Es wurden dabei gewisse diphtheroide Stämme gesehen, die die Schärfe der Grenze zwischen den Diphtherie- und Pseudodiphtheriekeimen im Hinblick auf diese Eigenschaft — Harnstoffspaltung — etwas verwischen. Man wird ihr deshalb bei der praktischen Auswertung mit Vorsicht begegnen müssen.

## IV. Diphtherietoxin

Das lösliche Diphtherietoxin ist der bestuntersuchte Wirkstoff der Diphtheriebakterien. Seine chemischen und immunobiologischen Eigenschaften wurden in der letzten Zeit mehrmals in der Literatur von namhaften Forschern auf diesem Gebiete eingehend geschildert (**H Schmidt** (258), **Th. Wagner-Jauregg** (260), **M. D. Eaton** (255), **A. Wadsworth** (261), **P. Bordet** (254), **O. Ramon** (257), **Loiseau et Philippe** (256), **A. Strom** (259) — u. a.). In diesem Bericht betrachten wir das Problem des Diphtherietoxins und der diphtherischen Intoxikation beim Menschen und beim Tier vom rein pathophysiologischen, oder besser vom toxikologischen Standpunkt aus. Wir wollen versuchen, uns aus den bisher bekanntgewordenen physikalischen und chemischen Eigenschaften des Diphtherietoxins — dieses stark wirksamen spezifischen Proteins der Diphtheriebakterien — sowie aus der Natur der bei einer experimentellen Diphtherieintoxikation bzw. im Verlaufe einer klinischen Diphtherieerkrankung festzustellenden Störungen einzelner Funktionen des erkrankten Organismus, ein Bild über das Wesen der diphtherischen Intoxikation zu machen. Dabei wird auf die immunobiologischen Fragestellungen nicht eingegangen und die an ihnen interessierten Leser an die Arbeit von **H. Schmidt** (258) angewiesen.

### 1. Toxinbildung in vitro

#### a) Nährböden.

Vom Standpunkt der chemischen und biologischen Erforschung des Diphtherietoxins bieten die proteinfreien synthetischen und halbsynthetischen Nährböden viele Vorteile. Darum bemühten sich mehrere Autoren, die Diphtheriebakterien auf solchen Substraten mit möglichst höheren Toxinausbeuten zur Entwicklung zu bringen.

Bei Züchtung auf älteren synthetischen Nährböden — etwa auf dem Substrat von **Uschinsky** (**A. Wadsworth** und **M. Wheeler** (319) trat schon nach einer Passage eine Abnahme der Virulenz und Toxinbildung der eingeimpften Diphtheriebakterien ein. Erst in Anlehnung an die von **H. Braun** und **Hofmeier** entwickelte Herstellungsvorschrift gelang es **E. M. Maver** (287), ein Toxin in synthetischer Lösung mit Dlm = 0,1 ccm herzustellen. Dazu wurde der Zystingehalt der Lösung vervierfacht, das Glykokoll zugesetzt und das Na-asparaginat durch Asparagin oder Ammoniumsuccinat ersetzt. Die Stämme mußten vorher eine Zeitlang an das Wachstum in synthetischer Lösung adaptiert werden und ein gutentwickeltes Häutchen darauf bilden können. **H. Lindemann** (278) züchtete neun Diphtheriestämme (davon sechs von „toxischen" und drei von „gewöhnlichen" Diphtheriefällen) auf dem Original-Braun-Nährboden, erhielt er aber nur bei zwei Stämmen eine geringe Toxinausbeute. Der Zusatz von 1 % hydrolisierten Peptons verbesserte die Toxinbildung nicht. In Anwesenheit von 1 % nicht hydrolisiertem Pepton erfolgte eine gute Toxinbildung.

Erst **A. M. Pappenheimer** und **S. J. Johnson** (292, 294) gelang es, auf einem halbsynthetischen Substrat, das aus einem Säurehydrolysat der Gelatine mit Zusätzen von Methionin, Zystin, Tryptophan, Maltose, Dextrose, Na-laktat, Salzen und einem Wachstumsfaktor aus Hefe bestand, ein Toxin mit 30—40 Lf pro 1 ccm nach sechstägiger Bebrütung zu gewinnen. Später erhielten **A. M. Papenheimer**, **J. H. Mueller** und **S. Cohen** (295) auch in einer rein synthetischen Lösung hochwertiges Toxin (Dlm = 0,0007 ccm; 36 Lf pro 1 ccm). Die Lösung wurde aus acht Aminosäuren, Pimelinsäure, Nikotinsäure, $\beta$-Alanin, Salzen, Maltose, Dextrose, Na-laktat zusammengesetzt und besaß einen N-Gehalt von 70 mg %. Der verwendete Stamm war Park-Williams Nr. 8.

In der neueren Zeit wurden von verschiedenen Forschergruppen viele Versuche vorgenommen, um die älteren Nährböden für die Toxingewinnung besser auszugestalten. Es wurden dabei die neueren Erkenntnisse auf dem Gebiet der Ernährungsphysiologie der Diphtheriebakterien mitverwertet. Im Institut Pasteur ging man dabei von der jahrelang erprobten Martin-Bouillon aus, die im Prinzip aus einem Gemisch von Kalbfleischbouillon und pepsinverdautem Schweinepansenextrakt besteht. 1929 schlug **G. Ramon** (306) einen Nährboden vor, der aus dem Mazerationssaft von Kalbfleisch mit Zusatz von 0,15 % Glukose und Pepton bestand (pH = 8,0—8,5). Mit einem frischgezüchteten Stamm erhielt er nach vier Vorpassagen und Löfflerserum ein Toxin mit Dlm = 0,01 ccm. Nach Zusatz von Schweinemagenpepton zu dieser Bouillon steigerten im nächsten Jahr **D. d'Antona** (264) und **O. Nureddin** (291) die Toxinausbeute und erhielten Toxine mit Dlm = 0,002—0,001 ccm und 16—20 Lf pro 1 ccm.

Weiterhin setzten **G. Ramon** und **A. Berthelot** (309) dieser Bouillon noch 0,5—1,0 % Na-azetat hinzu und erhielten in solcher Nährlösung (pH = 7,7—8,0) ein Toxin mit 24—30 Lf pro 1 ccm. Um möglichst bessere Toxinbildung zu erzielen, muß der Gehalt an Kalbfleischmazerat mindestens 1/10 des Gesamtvolumens des Substrats betragen. (**G. Loiseau** und **M. Philippe** (281, 282)).

In einer pepsinverdauten Kalbfleischbouillon mit Glukose und Na-azetat erhielt **G. Ramon** (307) ein Toxin mit 30—40 Lf pro 1 ccm. **E. M. Taylor** (317, 318) verwendete die pepsinverdaute Schweinemagenbouillon mit Maltose bei einem Verhältnis von Nährbodenoberfläche: Nährbodenmasse = 1 qcm : 2 ccm und gewann ein Toxin mit ca. 100 Lf pro 1 ccm.

Endlich berichteten **G. Ramon** und **Mitarb.** (308), daß es ihnen gelungen ist mit Hilfe von einer papainverdauten Pferdefleischbouillon mit 0,5 % frischer Bäckerhefe, Glukose, Maltose und Na-azetat eine Toxinlösung herzustellen, die Dlm = 0,0003 bis 0,00025 ccm. besaß (12 Tage Bebrütung bei 35 °).

Auch in China (**C. C. Young** (322, 323)) wurden Versuche zur Verbesserung der Martin-Bouillon unternommen. Die Kalbfleischbrühe wurde durch pepsinverdautes Pferdefleisch ersetzt und gewisse technische Neuerungen bei der Zubereitung eingeführt. Damit wurden Toxine mit Dlm weniger als 0,001 cc. und 21,6 Lf pro 1 ccm. gewonnen.

Einen etwas anderen Weg schlugen die englischen Forscher in Beckenham ein. Ausgehend von den Arbeiten von **A. Watson** und **E. Longstaff** (321) verwendeten sie trypsinverdautes Pferdefleisch. Nach Zugabe von Proteosepepton und Na-azetat erhielt **C. G. Pope** (300) zuerst einen Nährboden, auf dem Toxine mit Dlm. bis 0,00038 ccm erzielt wurden. Nach weiterer Verbesserung durch Bäckerhefe- und Maltosezusatz, bei Einhaltung von t °-Optimum = 32—35,5 ° und optimalem Oberflächenverhältnis gewann er zusammen mit **M. L. Smith** (303) ein Toxin mit Dlm = 0,00025 ccm. Französische Forscher erhielten mit dieser Bouillon bei einem Gesamt-N-Gehalt von 140—160 mg % ein Toxin mit Dlm = 0,0005 ccm und 30—68 Lf pro 1 ccm (**A. Berta** und **C. Garcia** (265)).

Dieser Nährboden hat unter dem Namen von Bouillon nach **Pope** und **Smith** in der Folgezeit Eingang in die meisten Toxin herstellenden Loboratorien gefunden. **D. Snajder** und **Lj. Jovanovic** (316) erhielten mit Popescher Bouillon bei 40 % ihrer Herstellungsserien Toxine mit 16—48 Lf pro 1 ccm. **O. Hida** und **S. Suzuki** (272) fanden als für Toxingewinnung optimales Medium auch eine Pferde- bzw. Rindfleischbouillon mit Pepton und Dextrose bei sechstägiger Bebrütung. Einen dem Medium nach **Pope-Smith** ähnlichen Nährboden haben **K. Ando** und **T. Komiyama** (262) veröffentlicht, der aber, da er als N-Quelle nur Proteosepepton enthielt, ein Toxin mit Dlm = 0,002—0,0006 ccm. und nur 11—18 Lf pro 1 cmm. lieferte.

Weitere fleischbrühefreie, peptonhaltige Nährböden für Toxingewinnung wurden auch von **A. Wadsworth** (320), **M. Marbe** und **A. Olariu** (283), sowie von **S. Hosoya** und

**Mitarb.** (273) vorgeschlagen. Sie stehen den fleischbrühhaltigen Substraten im Hinblick auf die Toxinausbeute nach.

Aus dieser kurzen Zusammenstellung ersieht man, daß die meisten Erfolge bisher einerseits mit der **Popeschen** trypsinverdauten Pferdefleischbrühe, andererseits mit der zuletzt veröffentlichten papainverdauten Pferdefleischbouillon nach **Ramon** erzielt wurden.

**b) Die Toxinbildung beeinflussende Faktoren.**

Diese Erfolge bei der Toxingewinnung wurden hauptsächlich durch eingehendes Studium verschiedener dafür in vitro maßgebender Faktoren gewonnen.

1. Die Bemühungen eine für die Toxinbildung **geeignete N-Quelle** zu finden, haben zur Anwendung verschiedener obenzitierten Fleischverdauungsprodukte geführt. Die Rolle des dabei zugesetzten Peptons wurde von **O. Hida** und **S. Suzuki** (1. l. cit.) geprüft, welche das albuminreiche und aminosäurefreie Pepton als für die Toxingewinnung besonders geeignet gefunden haben. Von Aminosäuren förderten **Arginin** und **Histidin** die Toxinbildung. **W. E. Bunney** und **L. E. Thompson** (267) untersuchten vergleichsweise verschiedene amerikanische Peptonsorten und fanden die Difco-Protone und Proteosepepton Nr. 2 als besonders für die Toxingewinnung geeignet.

2. Die Bedeutung des **Kohlehydratzusatzes** für die Toxinentstehung in einem halbsynthetischen Medium hat **C. G. Pope** (301) geprüft. Das Grundsubstrat enthielt Pepton, Na-azetat und Salze. Durch Zusatz von Glukose, Fruktose, Galaktose und Na-succinat wurde die Toxinausbeute gefördert, sie blieb aber immer hinter fleischwasserhaltigen Substraten zurück. Maltose in einer Konzentration von 0,04 % in Bouillon wirkte optimal und erlaubte Gewinnung eines Toxins mit 93 Lf pro 1 ccm (**C. G. Pope** und **Mealey** (304)).

**E. J. Hazen** und **G. Haller** (269) fanden, daß Glukose in kleinen Mengen (0,15 %) günstiger auf die Toxinbildung wirkt als Maltose oder Glyzerin. Dextrin war wirkungslos. Optimum wurde bei 0,15 % Glukose und 0,3 % Maltose erreicht, wenn die Zucker der Bouillon vor der Beimpfung zugesetzt waren. Weitere Zusätze von 0,15 % Glukose bzw. 0,075 % Maltose zweimal täglich während der Keimentwicklung beschleunigten die Toxinproduktion sehr. **M. Marbe u. a.** (284, 285) fanden, daß Zusatz von 0,2 % Glukose, 0,6 % Maltose und 1 % Na-azetat zur Bouillon in sieben Tagen zu einer dreifachen Ausbeute an Toxin gegenüber der zuckerfreien Bouillon führte. Es wurde dabei ein Toxin mit 45—55 Lf pro 1 ccm erhalten. **O. Hida** und **S. Suzuki** (l. c.) beobachteten, daß 0,2 % Glukose das Optimum darstellt; schon 0,3 % hemmen die Toxinentstehung.

3. Daß gewisse **Kationen** und **Anionen**, besonders Phosphate, für das Wachstum der Diphtheriebakterien notwendig sind, haben besonders deutlich die Arbeiten von **Braun** und **Mitarbeiter** gezeigt. **A. Wadsworth** und **M. Wheeler** (319) erzielten in einer Peptonlösung gute Toxinausbeute, die außer Glukose noch die Ionen: Natrium, Calcium, Magnesium, Chloride, Sulfate und Phosphate enthielt. Calcium war durch Barium und Strontium, nicht aber durch Mangano- und Magnesium-Ionen ersetzbar. Zur kräftigen Toxinproduktion sollten Calcium und Phosphationen zusammen mit Pepton erhitzt werden. Die Zugabe von kolloidalem Kalziumphosphat steigerte die Toxinausbeute auf das 10—100fache.

4. Was die **Schwermetalle** anbetrifft, fanden **A. Leulieu, P. Sédaillan** und **J. Clavel** (276, 277), daß bei Verwendung eines kupferhaltigen Filtermaterials (vom Nickelbelag entblößten Kupfertrichter), sowie in Anwesenheit von absichtlich zur Bouillon zugesetzten Kupfersulfats und anderer Cu-Verbindungen, die Diphtheriebakterien imstande sind, das Kupfer zu speichern. Bei Ausflockung des Toxins geht das Kupfer in den Niederschlag über. Das gespeicherte Kupfer läßt sich aus lebenden Bakterien durch Waschen nicht entfernen. **A. Locke** und **E. R. Maine** (279) sahen, daß

es bei Erniedrigung des Cu-Gehalts im Nährboden (durch Zystin- bzw. $H_2S$-Zusatz), sowie durch die Erhöhung des Fe- und Mn-Gehalts (Fe als Natriumferrozyanid oder Ferrizitrat) zu einer Abschwächung der Toxinbildung kommt. Als optimal wurde das Verhältnis Cu : Fe = 10—20 : 1 gefunden. Beim Verhältnis 1 : 1 erhielt man nur 1/30 des optimalen Toxinwerts.

**Pope** (302) aber fand im Gegenteil, daß ein gewisser Eisengehalt (bis 508 % in einem halbsynthetischen Medium auf die Toxinbildung fördernd wirkt; Cu wirkt etwas schwächer. Die durch Glukosevergärung in diesem Medium bewirkte Säuerung schlägt in Anwesenheit von Schwermetallen schneller ins Alkalische um. In Trypsinbouillon dagegen hemmt das Eisen die Toxinbildung; Cu verhält sich indifferent. **G.** und **J. Scheff** (310) beobachteten, daß in der Popeschen Bouillon ein gleichzeitiger Zusatz von Cu (200—350 %) und Zystin (40—60 mg %) die Toxinausbeute verstärkt, während Fe und Zystein ungünstig wirkten. Bei Anwendung von Difco-Bactopepton, das zystinarm ist, mußte man zur Erzielung guter Toxinausbeute Zystin hinzustzen.

**A. M. Pappenheimer** und **S. Johnson** (293) behaupten, daß die Spuren von Schwermetallen aus den bei der Toxinherstellung verwendeten Glasgefäßen die Höhe der Toxinerzeugung bis zu mehr als ± 100 % beeinflussen können. Für das Eisen fanden sie die Konzentration von 14γ % als optimal, für Cu-80γ %; schon bei 50γ % Fe bzw. 6 mg % Cu trat die Hemmung ein.

In der neuesten Zeit berichten **H. O. Hettche** und **M. Becker** (271), daß Fe, auch als komplexes Ferrikation, in Konzentrationen von 5—50γ % in **Pope**-Bouillon den Toxinverlust bis zur Toxinfreiheit bewirken kann; das Bakterienwachstum, dagegen unbeeinflußt läßt. Eisen, als Komplexanion, sowie Ni und Co bleiben ohne Wirkung. Cu setzt die Toxinbildung nicht herab, wirkt aber als Desinfiziens auf Bakterien. Eine fördernde Wirkung wurde nicht beobachtet.

Man sieht, daß trotz zahlreicher dieser Frage gewidmeter Untersuchungen, die Anschauungen über die Bedeutung von Schwermetallen für die Diphtherietoxinbildung noch jetzt widerspruchsvoll sind.

5. Von sonstigen **Biokatalysatoren** fand **A. Mustafa** (234, 235) die vitaminreichen Hefeextrakte, sowie einen Auszug aus Erythrozythen als die Toxinbildung fördernd. Das reine **Aneurin** steigert, besonders in Anwesenheit von einer französischen Handelssorte des Peptons, die Toxinausbeute um 5—6 Lf pro 1 ccm. Das **Laktoflavin** verbessert die Toxinausbeute um ca. 20 Lf pro 1 ccm. **P. Bordet** (266) gewann in zuckerhaltiger Bouillon nach Zugabe von Bäckerhefe das Toxin mit einem Titer von 45 Lf pro 1 ccm. In zuckerfreien Media blieb der Effekt aus.[1]

**J. J. Kligler** (274) hat gefunden, daß der Zusatz von **Ascorbinsäure** (0,05—0,1 %) die Toxinbildung in vitro hemmt. Der Toxinverlust geht bis auf 1/20 der ascorbinsäurefreien Kontrolle. Da auch der nachträgliche Zusatz von Ascorbinsäure das Toxin entgiftet, wird dabei eine Redoxwirkung des Vitamins vermutet. Nach **M. Wheeler** und **M. Crowe** beeinflußt der **Phorphirin**zusatz zum Nährboden die Toxinbildung nicht.

**M.** und **T. Philippe** (296) sahen, daß nach dem Zusatz von Schweinepansen **Muzin** zur Bouillon eine Hemmung des Wachstums der Diphtheriebakterien bei den Muzingenmengen größer als 0,2 gr pro Röhrchen auftrat. Auch die Toxinbildung nahm mit zunehmender Muzinkonzentration ab. Auf das fertige Toxin dagegen wirkt das Muzin stabilisierend.

---

[1]) **P. Bordet** hat festgestellt, daß die **Nikotinsäure** bei Toxinbildung und Zuckerverwertung bei den Diphtheriebakterien begünstigt; das Nikotinamid wirkt schwächer. **J. Annok** und **J. Buchgraber** (263) sahen, daß von den damals bekannten Vitaminen — A am wenigsten, B — (aus dem Hefesaft) — am stärksten, Lebertran — deutlich die Bildung des Diphtherietoxins in vitro verstärken. Die Toxinbildung von Diphtheriebakterien wird nach **Komis** (275) durch die Anwesenheit von schwach gärender Hefe gefördert.

6. Für die Toxinbildung sind weiter noch die **ph-Verhältnisse** im Nährsubstrat während der Bebrütung von Bedeutung. Diese Frage ist mit der **Zusammensetzung der Gasphase in den Kulturgefäßen**, sowie mit verschiedenen Dissimilationsprozessen der Diphtheriebakterien engst verknüpft. **W. N. Plastridge** und **L. F. Rettgen** (299) haben gezeigt, daß die Haltbarkeit des gebildeten Toxins zum großen Teil auf dem pH und $CO_2$-Gehalt der Kulturflüssigkeit beruht. Optimal ist pH = 7,0 und eine nicht zu große Menge von $CO_2$. Bei einem pH—6,0 kommt es zu einer Toxizitätsabnahme auch bei in zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrtem Toxin. Bei pH = 7,0—8,0, beim Durchströmen der Toxinlösung mit kohlensäurefreiem 50 % Sauerstoff kommt es zu einem Toxizitätsverlust, der bei Zusatz von 5 % $CO_2$ zum Sauerstoff ausbleibt. Diese Toxinzerstörung geht desto schneller vor sich, je größer der pH-Wert ist. Bei pH = 9,0 wirkt die $CO_2$-Zugabe konservierend, weil sie den pH-Wert auf 8,0 erniedrigt.

Auch **Hazen** und **Heller** (l. c.) berichten, daß die stärksten Toxine mit Nährböden erzeugt werden, die ein Anfangs-pH = 7,1 haben. Die pH-Änderungen während der Toxinbildung seien kein sicheres Kriterium für die Toxinreife und die Toxinausbeute stehe in keinem Zusammenhang mit dem End-pH. Diese Befunde wurden auch von **S. Schmidt** (311) bestätigt, der auch keine Abhängigkeit zwischen dem Anfangs-pH des Mediums und der Toxinbildung fand. Er erhielt die Toxine mit höheren antigenen Qualitäten bei pH = 7,3—8,9. Dagegen beeinflußt der pH-Wert das Verhältnis (Toxizität: antigene Wirksamkeit) des Toxins in höherem Grade.

Später **(S. Schmidt** und **Fjord-Nielsen** (312)**)** verglich er die pH-Änderungen mit dem Toxingehalt während längerer Züchtungsintervalle und fand, daß: 1. die pH-Werte folgenden Verlauf hatten — Anfangs-pH = 8,3; in ersten Tagen sinkt er auf 6,5; am 32. Tag —8,9; 256. Tag —8,7; 512. Tag —8,0. 2. Das Toxin hat bis zum vierten Tage zugenommen, dann blieb es bis zum 32. Tag fast unverändert; später trat eine schnelle Abnahme ein, und am 256. Tag waren nur noch sehr geringe Mengen, am 512. Tag nur Spuren von Toxin vorhanden.

**M. Wheeler** und **M. Crowe** (90) verfolgten die parallele Toxin- und Porphyrinbildung durch Diphtheriebakterien in fleischwasserfreier Peptonlösung und haben festgestellt, daß die beiden Substanzen gleichzeitig unter denselben Bedingungen auftreten. Wir wissen aber, daß diese Parallelität nur mit einer Identität der Bildungsbedingungen, nicht aber der Substanzen selber, erklärt werden kann. Interessant war auch dabei, daß bei Erniedrigung des $O_2$-Gehalts in der Gasphase eine deutliche Hemmung in der Bildung beider Substanzen eintrat, die durch den Zusatz von 1 % $CO_2$ gar nicht, von 5 % bis zur Hälfte, von 10 % vollkommen wieder beseitigt wurde.

Auch **C. Siebenmann** (313) wies auf die große Rolle der ausreichenden Sauerstoffversorgung und ausreichender Oberflächenentwicklung der toxinbildenden Kulturen hin. **M. Marbe** und **Mitarbeiter** (286) behaupten, daß das Diphtherietoxin in drei lt. Kolben bei 37 ° in fünf, in solchen von 100 ccm schon in 1—1,5 Tagen „reif" wird.

**C .C. Pope** und **M. Mealey** (305) beobachteten, daß die Toxinbildung nur dann gut vor sich geht, wenn nichts eine normale Entwicklung des Bakterienhäutchens auf der Bouillonoberfläche stört. Das hängt damit zusammen, daß Wachstum und Toxinbildung nur an der Oberfläche stattfinden. Besonders wird die Toxinbildung begünstigt, wenn die ausgebildeten Häutchen nach einer gewissen Zeit von sich aus zu Boden sinken und sich an ihrer Stelle neue bilden. Manchmal erschöpft aber schon das erste Häutchen die Produktionsmöglichkeit des Milieus, und eine weitere Häutchenbildung bringt keine Toxinzunahme mit sich. **R. H. Heeren** (270) fand, daß von 115 Subkulturen von 12 frisch isolierten Diphtheriestämmen im flüssigen Nährboden:

89 — Toxin und Häutchen,
11 — Toxin ohne Häutchen,
6 — kein Toxin, aber Häutchen und
9 — kein Toxin und kein Häutchen bildeten.

**Tabelle III.**

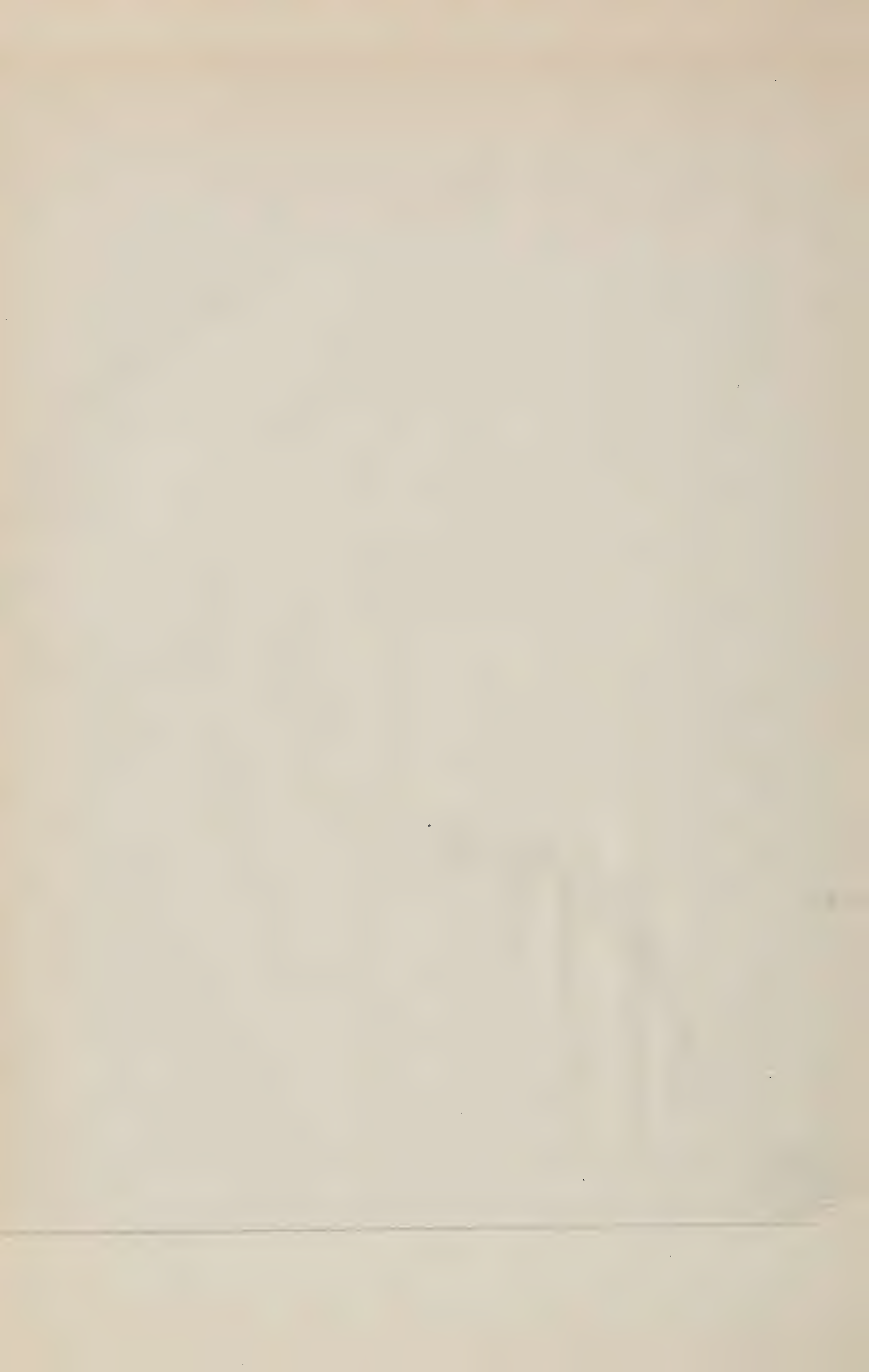
Säurebildung bei der Zuckervergärung durch verschiedene Corynebakterien.

| Verfasser | Grundsubstrat % des Zuckers Normalität der Lauge; Anfangs-pH; Bebrütungs-Indikator | Gebildete Säuremenge in n. $10^{-3}$ Aequivalent einer einbasischen Säure. | | | | | | | | Keimart bzw. Keimtyp |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Glukose | Maltose | Saccharose | Stärke | Glykogen | Dextrin | Galaktose | Fruktose | |
| Bitter, Gundel und Sancho (1926) 191 | Peptonwasser 11%; 0,1-n; 2 Tage Phenolphthalein | 0,20—1,40<br>0,05—1,10<br>0,00—0,30 | | | | | | | | Diphtherie<br>Diphtheroide<br>Pseudodiphtherie |
| Kliewe (1927) 217 | Bouillon; 1% 0,1-n; 5 Tage Phenolphthalein | 0,20—1,60<br>0,00—1,20 | 1,40<br>0,40 | | | | | | | Tierpathogene Diphth.-Ia<br>Tierpathogene Diphth.-Ib |
| Hettche (1936) 207 | Bouillon; 2% 0,1-n; pH-7,38 5 Tage; Phenolphthalein | 1,80—2,10<br>0,40—0,70 | | | | | | | | Normazide Diphtherie<br>Hypazide Diphtherie |
| Hettche (1936) 208 | Hottinger-Bouillon; 1% 0,1-n; Universalindikator Merck | | | 0,00—0,20<br>0,60—1,00<br>0,60—1,00<br>1,80<br>2,60<br>—0,20 | | | | | | Gravis-Normazide Diphtherie<br>Intermedius-Hypazide Diphth.<br>Mitis-Mesazide Diphth.<br>Hyperazide-apathog. Diphth.<br>Hyperazide Pseudodiphtherie<br>Pseudodiphtherie |
| Schlirf (1938) 239 | Phosphatpeptonwasser; 1%; 0,025-n; 7,3—7,4; 3 Tage Phenolphthalein | 1,00 —1,45<br>1,00 —1,33<br>0,50 —0,75<br>0,025—0,10<br>—0,10 —0,05<br>1,05 —1,15 | | ± 0,05<br>± 0,03<br>-0,13-+0,03<br>± 0,03<br>—0,03—0,05<br>0,93—1,47 | 0,97—1,40<br>0,67—0,75<br>0,50—0,65<br>0,93—1,07<br>0<br>—0,13—0,05 | | | | | Gravis<br>Mitis<br>Intermedius<br>Hypazide Diphtherie<br>Pseudodiphtherie<br>Hyperazide Pseudodiphtherie |
| Bohr (1939) 193 | Peptonwasser nach Schlirf; 0,025-n | 1,00<br>1,10—1,47 | | 0,02<br>-0,17-+0,12 | 1.13<br>-0,37-+0,03 | | | | | Gravis — 1 Stamm<br>Mitis — 13 Stämme |
| Schlirf (1940) 241 | Peptonwasser nach Schlirf; wie vorher, nur pH—7,6—7,8 | | rd. 1,50<br>rd. 1,50<br>rd. 0,75 | | 1,25—1,30<br>0,05—0,45<br>-0,10-+0,35 | rd. 1,50<br>0<br>0 | 0,75—1,75<br>0,55—0,65<br>0,35—0,45 | 0,55—0,65<br>1,30—1,45<br>0,45—0,60 | rd. 1,50<br>rd. 1,50<br>rd. 0,75 | Gravis<br>Mitis<br>Intermedius |
| Warnecke (1940) 247 | Peptonwasser nach Schlirf; 0,025-n; 2 Tage; Phenolphthalein | 0,87—1,25<br>0,50<br>0,75—2,75 | | | 0,87—2,50<br>0<br>0 | | 0,62—1,87<br>0,37<br>0,50—1,25 | | | Gravis<br>Intermedius<br>Mitis |
| Hohn (1941) 210 | Hottinger-Bouillon aus Stierhoden; 1 %; 0,025-n; pH—7,9—8,0; 1 Tag; Phenolphthalein | 2,15<br>0,90<br>2,00 | | 0<br>0,10<br>0 | 1,50<br>0,20<br>0,05 | | | | | Gravis<br>Intermedius<br>Mitis |
| | Wie vorher mit Peptonwasser | 1,10<br>0,65<br>1,35 | | 0<br>0,05<br>0 | 0,75<br>0,05<br>0,05 | 1,11<br>0,02<br>0 | 0,64—0,84<br>0,18—0,26<br>0,06—0,17 | 0,23—0,49<br>0,31—0,54<br>0,24—0,43 | 0,96—1,05<br>0,92—1,08<br>0,45—0,61 | Gravis<br>Intermedius<br>Mitis |
| Leinbrock (1942) 220 | Peptonwasser; 1%; 0,04-n; 7,6; 3 Tage; Mischindikator | 1,90—2,00<br>1,00—1,30<br>1,70—2,00 | | 0<br>0<br>0 | 1,40—1,90<br>0<br>0,90—2,00 | | | | | Gravis<br>Intermedius<br>Mitis (Stärke + und Stärke —) |
| Hompesch (1942) 213 | Peptonwasser; 1%; 0,04-n; 7,6; 3 Tage; Phenolphthalein | 0,87—1,06<br>0,65—1,07<br>0,32—0,56 | 0,62—0,84<br>0,48—0,83<br>0,31—0,64 | 0<br>0<br>0 | | Inulin, Raffinose, Rhamnose, Xylose, Arabinose, Sorbose, Adonit, Dulzit, Mannit und Sorbit wurden von keinem der geprüften Keime vergoren. | | | | Gravis<br>Mitis<br>Intermedius |
| | | Mannit | Laktose | Glyzerin | | | | | | |
| | Glyzerin—5% | 0,82—1,09<br>0,53—1,00<br>0,38—0,67 | 0,06—0,15<br>0,07—0,15<br>0,04—0,13 | 0,21—0,23<br>0,17—0,18<br>0,18—0,20 | | | | | | Gravis<br>Mitis<br>Intermedius |
| | | | Maltose | Glyzerin | | | | | | |
| Groß (1943) 203 | Bouillon; 0,01-n; 3 Tage; Phenolphthalein | | 0,45—0,47<br>0,10—0,15<br>0,71—0,81<br>1,16—1,75 | 0,43<br>—0,02<br>0,12<br>—0,09 | | | | | | Gravis<br>Intermedius<br>Mitis<br>Paradiphtherie-Hyperazide<br>Pseudodiphtherie |
| Tarnovski und Rueßbült (1943) 244, 245 | Serumpeptonwasser; 1%; 0,02-n; 7,6; 3 Tage Phenolphthalein | 2,14—3,94<br>-0,0-+0,24<br>3,13—3,59 | | | | | | | | Diphtherie Gr<br>Pseudodiphtherie<br>Paradiphtherie |
| | Hohn-Peptonwasser; 1%; 0,04-n; 7,6; 3 Tage; Phenolphthalein | 1,96—4,84<br>1,45—3,21<br>2,80—3,42<br>1,88—4,05 | | | 1,13—1,95<br>0,02—0,10<br>0,06—0,19<br>—0,21—0,09 | | | | | Gravis<br>Intermedius<br>Mitis<br>Paradiphtherie |

**Erläuterungen zur Tabelle III:**

1) Die in den einzelnen Arbeiten von obenzitierten Autoren angegebenen Daten, die alle in ccm der verbrauchten Lauge angeführt sind, wurden zwecks besserer Übersichtlichkeit in die pro 100 ccm der entsprechenden Nährlösung gebildeten Milligrammäquivalente einer einbasischen Säure umgerechnet (1 ccm verbrauchter 0,1-n-Lauge entspricht der Bildung von $1.10^{-4}$ Äquivalent einer einbasischen Säure). Hierbei mußte man die verschiedene Größe der titrierten Versuchsproben (gewöhnlich 5 bis 10 ccm), sowie die verschiedene Normalität der angewandten Laugelösungen und in einigen Fällen (z. B. bei Lainbrock) auch die verschiedenen Umschlagswerte des pH der angewandten Indikatoren durch Rechnung berücksichtigen.

2) Wo von den Verfassern auch die Werte für die Säure- bzw. Alkalibildung in dem entsprechenden zuckerfreien Nährboden angegeben waren, konnten wir mit ihrer Hilfe die „korrigierten", der wahren Säurebildung aus dem zugesetzten Zucker entsprechenden Werte ermitteln.



Für die Konservierung der Vitalität und Toxinbildungsfähigkeit der Diphtheriebakterien sind aber die halbanaeroben Züchtungsbedingungen viel günstiger. Zu diesem Zweck benutzte **M. Philippe** (297, 298) die Überschichtung der Bouillonkulturen mit Paraffinöl, **A.** und **E. Zink** (324) sahen aber, daß auch unter diesen Bedingungen ein langsamer, aber irreversibler, von einer kokkoiden Entartung der Diphtheriebakterien begleiteter Toxizitätsverlust erfolgt.

7. Der Einfluß, den die **Anzahl der Passagen** der Diphtheriestämme in synthetischer Lösung auf die Toxinbildung hat, überprüfte **Maver** (288) und beobachtete, daß von 31 frisch isolierten Diphtheriestämmen nach erster Passage — bei zehn, nach zwei Passagen — bei 15 eine kokkoide Entartung eintrat. Die erhaltenen Varianten unterschieden sich von den Ausgangskulturen in fermentativer und antigener Hinsicht stark. **E. Simon** (315) berichtet über einen bald positiven, bald negativen Einfluß der Passagen auf die Toxinbildung von neun Diphtheriestämmen. Als Nährboden wurden die mit elf verschiedenen Sera hergestellten Löffler-Platten benutzt. Dabei spielte die **Individualität der Stämme** eine sehr große Rolle. Der Zusatz von Menschenserum zum Diphtherienährboden übt bei Sera von manchen Individuen einen Einfluß auf die Toxinbildung der Diphtheriebakterien aus. Diese Eigenschaft der Sera hängt mit keiner bestimmten Krankheit der Serumspender zusammen (**M. Frank** (268)).

8. **A. Locke** und **E. R. Maine** (280) konnten in der Toxinbildung des Stammes Park-Williams Nr. 8 keine **jahreszeitlich bedingten Saisonschwankungen** feststellen.

Der Nährboden selbst erleidet im Laufe der Toxinbildung eine Reihe von ganz charakteristischen Veränderungen: der Proteingehalt steigt an, die Lichtbrechung der Lösung sinkt, die Bakterienmasse wird im allgemeinen erhöht (**C. Siebenmann** (314)); später erzeugt die auftretende Autolyse eine merkliche Bakterienmasseabnahme, die von einer Ammoniakbildung und Alkalisierung des Mileus begleitet ist. Der Aminosäure-N wird erhöht nach einer kurzdauernden Abnahme im Anfange der Bebrütung (**O. Hida** und **S. Suzuki**, l. c.); auch die mit Tannin bzw. Alkohol fällbaren N-Fraktionen erleiden eine Erhöhung. Humin- und Zystin-N nehmen dagegen ab. Sie werden wahrscheinlich in die Bakterienzellen eingebaut.

### 2. Toxinreinigung

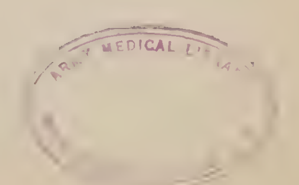
Das in synthetischen, sowie in gewöhnlichen Medien gebildete Diphtherietoxin befindet sich in einem sehr komplizierten Gemisch von verschiedenen Bestandteilen des Nährbodens, zu denen sich noch die mannigfaltigen Stoffwechselprodukte der Diphtheriebakterien und Substanzen aus ihren abgestorbenen und autolysierten Leibern hinzugesellen. Für die Erforschung der chemischen Natur des Toxins, sowie für die Herstellung hochaktiver Schutzimpfstoffe wurde es als besonders dringendes Bedürfnis empfunden, die Toxine möglichst von allen diesen Ballaststoffen zu befreien, und dadurch zu reinen Toxinpräparaten zu gelangen.

Bei der Anwendung von verschiedenen physikalischen und chemischen Reinigungsverfahren wurden einige Veränderungen der toxischen und antigenen Toxinfunktionen beobachtet. Diese Veränderungen wurden manchmal von gewissen chemischen Vorgängen begleitet, die unsere Anschauungen über die Struktur und Wirkungsgruppen des Toxinmoleküls bereicherten. Unsere Kenntnisse auf diesem wichtigen Gebiet der Diphtherie-Toxinforschung sind noch ziemlich lückenhaft; die schon erzielten Resultate gestatten aber, gewisse Aussagen über die Chemie des Diphtherietoxins zu machen.

#### a) Physikalische Reinigungsmethoden.

Von den physikalischen Methoden der Toxinreinigung wurde besonders die **Ultrafiltration** der toxinhaltigen Diphtheriekulturen öfters herangezogen. **S. Sierakowski** und **R. Zajdel** (381, 382), sowie **Sbarski** und **Nikolajeff** (372) trennten das Diphtherie-





toxin mit Hilfe der Ultrafiltration durch 3 % Kollodiummembranen von Bakterien und Albuminen ab. Danach filtrierten sie die erhaltene Lösung durch 10 % Kollodiummembranen bei 5 °, die das Toxin zurückhielten. Nach Abspülung mit NaCl-Lösung wurde das Toxin mit einem Azetatpuffer bei ph = 4,8 ausgefällt. Nach wiederholter Auflösung in 0,1—n NaOH und Wiederausfällung mit Azetat bei 0 ° gewannen sie ein gereinigtes Präparat, das frei von Albumosen und Aminosäuren war und sehr wenig Mineralbestandteile enthielt. Das Präparat besaß typische toxische, serologische und antigene Eigenschaften des Diphtherietoxins.

**A. Wadsworth und J. J. Quigley** (387) fanden die **Bechholdschen** Ultrafilter als zu wenig ergiebig und schlugen ihre eigene Apparatur vor. Mit den 4,5—11 % Kollodiummembranen erhielten sie praktisch das ganze Toxin aus 4 Liter Toxinlösung in gereinigter Form; der Gesamt-N-Gehalt wurde dabei um 94 % vermindert, die Toxizitätsverluste traten nicht auf. Später (**Wadsworth, Wheelen** und **Mendez** (388)) haben sie die 8,5 % Parlodionmembranen mit Erfolg zur Ultrafiltration eines halbsynthetischen Toxinnährbodens herangezogen.

Mit Hilfe der **Quigleyschen** Apparatur erhielten auch **F. Modern** und **G. Ruff** (362) ein stickstoffarmes Toxin, dessen Toxingehalt auf das 3—12fache gegenüber dem ungereinigten anstieg. **C. Russo** (370) fand ebenfalls, daß die Ultrafiltration die physikalisch-chemischen, serologischen und biologischen Eigenschaften des Diphtherietoxins unverändert läßt. Er empfiehlt auf die Klarheit, Viskosität und den pH-Wert der Toxinlösungen bei ihrer Ultrafiltration besonders zu achten.

Weiterhin wurde von den physikalischen Verfahren noch die **Elektrophorese** der toxinhaltigen Lösungen versucht (**H. Theorell** und **G. Norlin** (386)). **E. M. Maver** (361)) erzielte mit dieser Methode beim Diphtherietoxoid einen Reinheitsgrad, bei dem 1 Lf in 0,00555 mg. Trockensubstanz = 0,0009 mg. N erhalten wurde. Toxin wandert im elektrischen Felde gemeinsam mit Bakterienproteinen und ist gleichzeitig mit ihnen durch Pepsin, Papain und alkalisches Trypsin zerstört.

Durch **Ausfrierung** bei —5 ° lassen sich bei den Diphtherietoxinlösungen nach **A. Salimbeni** und **G. Loiseau** (371) drei Fraktionen abtrennen. Die erste, sehr dicke und flüssigbleibende enthält fast das ganze Toxin. Eis ist toxinfrei, enthält aber in seinen Lücken die dritte, leicht gefärbte, sehr toxinarme Fraktion. Oberhalb des Gefrierpunkts herrscht ein sehr stabiles Gleichgewicht zwischen dem Lösungsmittel und den in ihm gelösten Stoffen, so daß das Gemisch schwer trennbar ist.

b) **Chemische Reinigungsmethoden.**

1. **Säurefällung.** Die Säurefällung als Methode der Toxinreinigung wurde zuerst von **Glenny** und **Walpole** (338) vorgeschlagen. In der Folgezeit versuchten **Watson** und **Mitarbeiter** (389, 390), **Locke** und **Maine, Koulikoff** und **Smirnow** (353) diese Methode zu vervollkommnen und in die Praxis einzuführen. Im Jahre 1928 haben **D. Kissin** und **L. Bronstein** (352) beim Zusatz von Mineralsäuren (besonders der 1-n HCl) zum Diphtherietoxin das Auftreten von drei Phasen im Verlaufe der Ansäuerung beobachtet. Die erste Phase, die sich bis zum Erreichen von pH = 6,2—6,3 erstreckt, ist die Phase der Neutralisation der Bikarbonate des Nährbodens. Nachdem dieser **Punkt I** erreicht ist, kommt es bei weiterem Säurezusatz zur Bildung eines Niederschlags, der praktisch das gesamte Toxin enthält und bei Realkalisierung sich wieder auflöst. Dabei treten keine größeren Toxinverluste auf, und die Flockungsfähigkeit bleibt fast intakt. Auf dem Höhepunkt der Niederschlagsbildung wird **Punkt II** erreicht (isoelektrischer Punkt der Toxinproteine). Bei weiterer HCl-Zugabe löst sich der Niederschlag auf und nachdem alles aufgelöst ist und die freie HCl (Tropäolin als Indikator) erscheint ist der **Punkt III** eingetreten. Wenn man die zur Erreichung der betreffenden Punkte notwendigen HCl-Mengen mißt, kommt man zu dem sog. **„Säurequotient“** (II—I) : (III—II). Er ist für die geprüften Toxine konstant und beträgt für frische Toxine im Mittel 1 : 2, nähert sich für die gealterten aber dem Wert 1 : 1.

Dieses Verhalten des Toxins den Mineralsäuren gegenüber wurde durch eine Modellvorstellung über die Toxinstruktur erklärt, wonach das Toxin ein höheres Polypeptid ist, bei dem pro eine freie COOH-Gruppe zwei freie Aminogruppen entfallen müssen, und zwar je eine primäre und eine tertiäre. Die Säureausfällung des Toxins wird durch die Herabsetzung der Dissoziation der COOH-Gruppe, die Wiederauflösung bei weiterem HCl-Zusatz durch Bildung von Chlorhydraten der Aminogruppen des Toxins erklärt. Mit Alterung des Toxins soll eine innere Anhydrisierung des Toxin-Polypeptids mit Bildung eines laktamartigen NH-CO-Rings eintreten, die das HCl-Bindungsvermögen herabsetzen muß. Ist die Toxizität des Toxins mit der Anwesenheit von freien Aminogruppen verknüpft, könnte dieses Toxinmodell auch die Toxizitätsabnahme bei Alterung des Toxins erklären.

Beim Altern des Toxins wird aber, vermutlich, nur ein Teil der Aminogruppen der Fähigkeit, HCl zu binden, schnell entzogen. Dieser Teil wird mit der Zeit allmählich vergrößert auf Kosten von freien Aminogruppen. Beim Formolisieren des Toxins wird ebenfalls nur die primäre Aminogruppe gebunden, die tertiäre aber bleibt intakt.

Diese Hypothese über die chemische Struktur des Diphtherietoxins wurde in der Folgezeit besonders von **Hewitt** (417) heftig kritisiert. Sie enthält aber viele Punkte, die u. E. auch jetzt ihre Bedeutung nicht verloren haben. Wir kommen auf dieses Thema bei der Besprechung der Formolinaktivierung des Diphtherietoxins zurück.

Obwohl **W. E. Bunney, J. Cianciarullo** und **M. Kiamil** (331) die Säurereinigung, kombiniert mit der Alkoholfällung im großen Stil erprobt und für die industriellen Zwecke als geeignet gefunden haben, hat sich diese Methode in der Praxis nicht durchsetzen können wegen der zu großen Verluste an der antigenen Wirksamkeit der erhaltenen Präparate. So fanden, z. B. **S. Schmidt** und **Kjaer** (378, 379), daß die durch Adsorption am Al $(OH)_3$ und Säurefällung gereinigten Toxine nicht nur hitzeempfindlicher werden (das werden sie auch nach anderen Reinigungsmethoden), sondern bei 37 ° in 24 Stunden etwa 30 % ihrer Toxizität und Flockungseigenschaften einbüßen. Damit geht auch ein Teil ihrer antigenen Wirksamkeit verloren.

Trotzdem bedienen sich auch in der neuesten Zeit einige Laboratorien der Säurefällung bei der Toxinreinigung mit Erfolg. **J. Rubinstein, S. Ssosina** und **G. Rachmantschik** (369) berichten über günstige Resultate, die sie besonders mit HCl bei pH = 3,8 bei der Toxinreinigung erzielten. Essigsäure ist auch brauchbar. Dabei erhalten sie das bis zu 95—97 % von den Ballaststoffen befreite Diphtherietoxin, das noch 91—96 % seiner antigenen Wirksamkeit besitzt.

**A. Boivin** und **Y. Izard** (328) haben ihre bei der Gewinnung von Endotoxinen der gramnegativen Bakterien gut bewährte Methode der Trichloressigsäurefällung (in der Kälte bei pH = 3,5) auf die Reinigung des Diphtherietoxins zu übertragen versucht. Sie erreichten damit eine Reinigung von den Ballaststoffen bis zu 99 %. Der erhaltene Toxinniederschlag wurde (**Boivin** (329)) im Phosphatpuffer oder in 0,1—n $Na_2CO_3$ bei pH = 8 aufgelöst, mit Tierkohle entfärbt und erneut mit Trichloressigsäure gefällt. Es wurde dabei bis zu 75 % des Toxins zurückgewonnen.

Das gereinigte Toxin hatte eine antigene Wirksamkeit, die einer Lf = 0,003 mg Substanz entsprach. Es enthielt 15,1 % N; 0,1 % P; 0,5 % Aschespuren von Fe, aber kein Cu. Es gab die Farbreaktionen auf Proteine; die Molisch-Reaktion war negativ. Nach der Säurenhydrolyse wurden keine Fettsäuren, keine Kohlehydrate, keine Purinbasen, nur aber die Aminosäuren gefunden.

Aus den Ergebnissen der Säurefällung des Diphtherietoxins wurden einige weitere Einblicke in die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Toxinteilchen gewonnen. Das Diphtheriegift soll ein Ampholyt sein, das bei pH = 3—4 maximal ausgefällt wird. Seine Toxizität ist an seine Eigenschaften als Säure gebunden, da das pH-Optimum der Toxingiftigkeit bei pH = 8—9 liegt. Die untere und obere pH-Grenze der Toxizität liegen bei pH = 5 bzw. 12. Das Antitoxinbindungsvermögen verhält sich in einer analogen Weise (**v. Groeer** (345)). **Barikin** und **Mitarb.** (327) wollen diese pH-Zone

der Toxingiftigkeit auf das Intervall zwischen pH = 5,5 bis 9,5 einengen. Bei einer stärkeren Säuerung der Toxinlösung wird das durch die vorherige pH-Erniedrigung ungiftig gewordene Toxin teilweise wieder giftig. Die Verluste an Toxizität bei Aussäuerung sind von reversibler Natur und verlaufen parallel der Verminderung seines Dispersitätsgrades (siehe auch **Raewsky** (368)).

Nach **Kulikow** und **Smirnow** (355), sowie **Sédaillan et Gaumont** (380) liegt der isoelektrische Punkt des Diphtherie-Bouillontoxins bei pH = 4.7—4.8. Der bei diesem Punkte erhaltene Toxinniederschlag ist phosphorreicher; er ist pepsinoresistent und soll aus Nukleoproteinen bestehen. Nach Dialyse verliert er seine toxischen und antigenen Eigenschaften.

**Hallauer** (347) nimmt als Grundlage der Toxininaktivierung durch Säure eine reversible intramolekulare Umlagerung der die Toxizität bedingenden Ringstrukturen des Toxinteilchens zu offenen Ketten an. Bei der Realkalisierung wurden die Ringe wieder geschlossen und die Toxizität wieder hergestellt.

Ganz vereinzelt in der Literatur stehen die Befunde von **Krestownikowa, Rjachina** und **Petrowa** (354). Diese russischen Forscherinnen haben das Diphtherietoxin durch Ultrafiltration, Dialyse und Alkoholfällung gereinigt. Danach folgte eine Fraktionierung mit Trichloressigsäure. Die säurelösliche Fraktion T war toxisch, eiweißfrei und mit Phosphorwolframsäure fällbar. Die Niederschlagsfraktion S lieferte nach Hydrolyse Zucker und freie Purinkörper, sowie einen abtrennbaren „Aminoanteil". Die Eiweißkomponente für sich wirkte nicht antigen und präzipitierte nicht mit dem spezifischen Antiserum. Nur beide Fraktionen zusammen besaßen die volle antigene und serologische Wirksamkeit.

Diese Befunde wurden von anderen Autoren nicht kritisch überprüft und scheinen größtenteils durch unzulängliche Arbeitstechnik bedingt zu sein.

2. **Adsorptionsmethoden.** In Anlehnung an die bei der Fermentreinigung durch **R. Willstätter** und **Mitarb.** ausgearbeitete Methodik der Adsorption der Zellwirkstoffe am **Aluminiumhydroxyd** wurden die entsprechenden Toxinreinigungsverfahren entwickelt. **E. Maschmann, E. Küster** und **W. Fischer** (360) **fanden,** daß das $\beta$-Al $(OH)_3$ das Diphtherietoxin in schwach saurer Lösung am besten adsorbiert. Nach einer Einstellung auf pH = 5,5 mit Essigsäure setzten **K. Linderström-Lang** und **S. Schmidt** (356—358), sowie **A. Hansen** und **S. Schmidt** (348) den Toxinlösungen das Aluminiumhydroxyd C $\gamma$ hinzu. Nach dem Zentrifugieren und Waschen des Niederschlags mit destilliertem Wasser wurde das Toxin im 0,1—n $Na_2HPO_4$ eluiert. Es folgte Dialyse und wiederholte Adsorption und Elution im Vakuum und in der Kälte. (Siehe auch **S. Schmidt** (374, 375)), sowie **S. Schmidt** und **A. Hansen** (376, 378)).

Bei dieser Prozedur wird das Toxin von 99,5 % seiner Ballaststoffe gereinigt. Die Toxizität nimmt etwas ab, die antigene Wirksamkeit und die Fähigkeit, mit dem Antiserum spezifisch auszuflocken, bleiben aber unverändert. Als Ausdruck dieser Veränderungen nimmt die Toxizität pro mg N, besonders aber der Antigenwert in AE pro mg N bedeutend zu.

**C. G. Pope** und **F. V. Linggood** (367) kombinierten die Toxinadsorption am Al $(OH)_3$ mit Ultrafiltration und Holzkohlebehandlung. Dadurch wird das Toxin bis auf geringe Spuren von Bakterienproteinen befreit. Fast 100 % des Gesamtproteins liegt nach dieser Behandlung als reines Toxin vor. Das Bakterienprotein ist besonders durch seine Hitzekoagulierbarkeit bei pH = 4 ausgezeichnet.

Von anderen Metallhydroxyden wurden zwecks Toxinreinigung noch $Zn(OH)_2$ und $Mg(OH)_2$ verwendet. Zinkhydroxyd wurde von **S. Ohyama** (363) eingeführt. Das gereinigte Toxin war zuckerfrei, thermolabil, frei von bakteriellem Eiweiß, empfindlich gegen Trypsin und hatte, verglichen mit dem Rontoxin eine doppelte Toxizität. Auch $Ca_3\ (PO_4)_2$ gibt gute Resultate (**Abt** (325)).

Die Adsorption des Diphtherietoxins an $Mg(OH)_2$ in kolloidaler Suspension wurde noch von **P. Groß** (346) untersucht. Es wurden bis 94 % des Toxins adsorbiert. Die Elution geschah mit Hilfe des Ammoniumphosphats oder durch $CO_2$-Einleitung. Durch Dialyse von Magnesium- und Ammoniumionen befreit, ergab sich als Endergebnis ein Toxin, das von 90 % der Begleitstoffe befreit war; ein Dlm dieses Toxins war in 0,0037 ccm der gereinigten Lösung enthalten. Da vor der Adsorption Dlm = 0,0035 ccm war, waren bei diesem Verfahren keine Toxizitätsverluste zu verzeichnen. **E. E. Ecker** und **L. A. Weed** (336) vervollkommneten diese Methode und verringerten den $Mg(OH)_2$-Verbrauch bis auf ein Zehntel des früheren Wertes. Endlich erzielten **K. Ando** und **T. Komiyama** (326) ein gutgereinigtes Produkt, indem sie das Toxin an Calciumphosphat in Kombination mit dem Zinkhydroxyd adsorbiert hatten. Bei der Adsorption an **Kohle** bleibt die Giftigkeit der Di- und Tet.-Toxine unvermindert. Sie vermögen aber im adsorbierten Zustande viel weniger Antitoxin zu binden (**Eisler** (337)).

3. **Fällung mit Alaun, Ammoniumsulfat u. ähnl.** Die meisten der bisher besprochenen Verfahren wurden in der Absicht entwickelt, möglichst reine und hochwirksame Impfstoffe zu erhalten. Aus diesem Grunde wurde dabei viel mehr Aufmerksamkeit der Reinigung der Toxoide, als der eigentlichen nativen Toxine geschenkt, sowie viel mehr Wert gelegt auf die Veränderungen der biologischen und serologischen Eigenschaften der gewonnenen gereinigten Produkte als auf ihre chemische Struktur.

In Verfolgung dieser praktischen Aufgaben versuchten **E. T. Glenny** und **M. Barr** (339) das Diphtherie-Formoltoxoid mit **Alaun** auszufällen. Je nach dem Gehalt an Alaun, das in der zu reinigenden Toxinlösung bzw. im Formoltoxoid erzielt wurde, entstanden dabei verschiedene Produkte. Bei höheren Alaunkonzentrationen wurden die Antigenverluste größer, der Reinigungsgrad des Produkts stieg aber an. (Siehe auch **Wells, Graham** und **Havens** sowie **Havens** und **Wells** (350)).

**A. Tasman** und **A. Bondman** (383) verglichen die Methode der Alaunfällung (später benutzten sie Ammonium — anstatt des Kalialauns) des Diphtherietoxins mit seiner Adsorption an $Al(OH)_3$. Sie fanden, daß die Adsorptionsmethode qualitativ bessere Präparate ergab, die mehr Dlm pro 1 mg N enthielten. Die Verluste an antigener Wirksamkeit waren aber bei dem letzten Verfahren größer als bei der Alaunfällung (es wurden nur bis 66 % Antigens zurückgewonnen). Deshalb gingen sie später zur Ausfällung des Toxins mit **Ammoniumsulfat** (330, 384, 385) über. Sie fällten das Toxin bei pH = 8,0—8,7 mit 26,5—45 % des Ammoniumsulfats aus. Wenn das Rohtoxin eiweißarm und die Sättigungszone eng genug gewählt wurde, gewann man ein beträchtlich eiweißärmeres gereinigtes Toxin. Bei einer Ausbeute an gereinigtem Toxin von 50—60 % des Rohtoxins erzielte man eine bis zu 30fache Vergrößerung der antigenen Wirksamkeit pro mg N. Durch Dialyse wurde das gereinigte Toxin salzfrei gemacht.

**M. D. Eaton** (332, 333) verglich zwei der früheren Toxinreinigungsmethoden untereinander (Säurefällung + Ammoniumsulfatfraktionierung und Ammoniumsulfatfraktionierung + Adsorption am Aluminiumhydroxyd) und, da er sie beide unbefriedigend fand, arbeitete er ein neues Verfahren aus.

In einem fleischwasserfreien Peptonnährboden nach **Wadsworth** und **Wheeler** hat er zuerst die Phosphate mit $CaCl_2$ ausgefällt. Dann fällte er die Proteine mit Ammoniumsulfat (1/3-Sättigung). Danach kam eine Toxinausflockung mit Ammoniumalaun bei pH = 6. Nach dem Auswaschen des Niederschlags wurde er in Na-zitrat gelöst und mit **Kadmiumchlorid** wiederholt ausgefällt. Aus 100 Liter Rohtoxins gewann er in dieser Weise 1—2 gr gereinigten Toxins, das pro 1 Lf etwa 0,0005 mg N und pro 1 Dlm — etwa 0,000016—0,00002 mg N enthielt. Das Verhältnis Dlm : Lf betrug 20—35. Das Präparat enthielt außer dem Protein, das mit dem Toxin wahrscheinlich identisch ist (nicht weniger als 80 % des Gesamteiweißes des gereinigten Toxins ist durch Trichloressigsäure fällbar), noch die Spuren von Proteosen aus dem Nährboden und wahrscheinlich Spuren von bakteriellem Eiweiß. Nach Hydrolyse wies das gereinigte Toxin die Anwesenheit von beträchtlichen Mengen von Tyrosin und Arginin

auf, vielleicht auch von Phenylalanin und Histidin, dagegen sehr wenig Tryptophan und keinen Zystin-Schwefel. Es besitzt unter 0,5 % P. Molisch-Reaktion war negativ, oder nur sehr schwach positiv.

Weiterhin (334) befreite **Eaton** das gereinigte Toxin von den noch vorhandenen Spuren der Fremdproteine durch Säurefällung. Er benutzte dabei als Fällungsmittel: Nukleinsäure, $H_3PO_4$ oder $H_2SO_4$. Nachfolgend hat er mit Ammoniumsulfat fraktioniert. Dabei wurden auch die Reste von Proteosen und Peptonen entfernt.

Bei solcher Reinigung geht aber rund die Hälfte der Toxizität verloren; gleichzeitig verschwindet auch die präzipitinogene Wirkung des gereinigten Toxins. Die Frage, ob durch die Säure auch das Toxin mitausgefällt wird, beantwortet **Eaton** dahin, daß natives Toxin in Anwesenheit von ganz kleinen Elektrolytmengen durch Ansäuerung nicht ausfällbar sei; was dabei ausflockt muß das denaturierte Toxin sein. Gleichzeitig wird durch das koagulierte Eiweiß das etwa in dem Nährboden verhandene Porphyrin mitgerissen und in dieser Weise vom gereinigten Toxin abgetrennt.

In einer späteren Arbeit (335) gibt **Eaton** ein verbessertes Toxinreinigungsverfahren an, bei dem die Alaunfällung weggelassen ist. Die Toxinlösung, die 2 % Na-zitrat enthält, wird bei pH = 7,0 mit 1/5 Volumen der 5 % $CdCl_2$-Lösung versetzt. Nach 1—2 Stunden wird der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat bei pH = 6,0 zu 1/3 Volumen mit 5 % Kadmiumchloridlösung versetzt. Nach dem Absetzen im Eisschrank über Nacht wird der Niederschlag mit dem Phosphatpuffer gewaschen und dann bei pH = 7,8 eluiert. Weiter folgt eine Ammoniumsulfat-Fällung. Dialyse-Auflösung und Säurefällung. Auf diesem Wege bekam **Eaton** ein Toxin, das genau wie das Präparat von **Boivin** 1 Lf in 0,003 mg Trockensubstanz enthielt (0,01 mg—1 AE).

Aus einer halbsynthetischen Nährlösung haben **A. M. Pappenheimer** und **S. J. Johnson** (294) mit Ammoniumsulfat ein gereinigtes Toxinpräparat hergestellt, das 1 Lf in 0,00046 mg N, 1 Dlm in 0,0000125 mg N enthielt. 1 Lf war wiederum in 0,003 mg Trockensubstanz enthalten. Dieses Präparat (2) ergab bei Analyse 16 % N, 0,75 % S, 9 % Tyrosin, 1,4 % Tryptophan. Nach den Analysen eines später gewonnenen Präparats (364) des Diphtherietoxins, wurden in ihm 2,3 % Histidin, 3,8 % Arginin und 5,3 % Lysin gefunden. Es hatte eine spezifische Drehung — $[\alpha]_D^{20°}$ = —40 ° und einen isoelektrischen Punkt bei pH = 4,1.

Die Teilchengröße des gereinigten Toxins wurde mit Hilfe der Elektrophorese, Sedimentation in der Ultrazentrifuge und Diffusion gleich 72.000 gefunden, die des Diphtherieantitoxins aus Heilserum = 150.000 (359, 365). **Pappenheimer** und **M. L. Petermann** (366) haben für das Diphtherietoxin folgende wichtige physikalisch-chemische Konstanten gemessen:

Das Toxin ist zwischen pH = 5,6 und 10,0 stabil.
Seine Sedimentationskonstante = 4,6 . $10^{-3}$.
Seine Diffusionskonstante — $D_{20°}$ = 6,0 . $10^{-7}$.
Die Teilchengröße = 74.000.
Die elektrophoretische Beweglichkeit = 4,9 . $10^{-5}$.
Das Verhältnis der Achsen des Toxinteilchen = a : b = 4,7.
Das Toxin hat ein Maximal„valenz" für das Antitoxin = 8; die des Antitoxins für das Toxin ist gleich 2.

4. **Andere Reinigungsmethoden.** Es wurden noch einige Fällungsmethoden zur Toxinreinigung herangezogen, die aber keine größere Anwendung fanden. So versuchten **A. Hansen** und **S. Schmidt** (349) durch Mischung des Diphtherietoxins mit **Methanol** im Verhältnis 1 : 9 in der Kälte seine Reinigung zu erzielen. Es tritt aber eine deutliche Abnahme der Toxizität und des Flockungsvermögens, sowie in kleinerem Maß der antigenen Wirksamkeit ein. **Aethanol** greift weniger das Toxin an, reinigt es aber nicht so gut wie Methanol. Mit der **Azetonfällung** haben sie ebenfalls keine guten Resultate erzielt.

**H. Goldie** (340, 341) untersuchte eine Reihe von organischen Verbindungen auf ihre Fähigkeit, das Diphtherietoxin ohne größere Schädigungen auszufällen. So erzielte er eine schnelle Reinigung durch Ausflockung des Toxins mit einer zitronensauren Lösung des **p-Aminophenylstibinats** (1), mit nachfolgendem Waschen des Niederschlags in 2—4%iger Lösung des 1-Amininaphthalin — 4, 6, 8 — Na-trisulfonats, womit auch die Reste des Antimons entfernt wurden. Auch mit geringen Mengen von **p-Azetylaminophenyl-Na-arsinats** konnte er in verdünnten Toxinlösungen einen krümmeligen Toxinniederschlag erzeugen. Die toxinfällende Fähigkeit der organischen Sb- und As-Verbindungen erwies sich als von der Anzahl und Stellung gewisser Gruppen am Benzolkern stark abhängig. Weder merkliche Verluste der Toxizität noch die der antigenen Wirksamkeit wurden dabei beobachtet. Auch mit dem **2-Aminonaphthol — 3, 6, 8 — Na-trisulfonat** erzielte er gute Ausbeute am hochgereinigten Toxin (343, 344).

Die oben mitgeteilten Erfolge auf dem Gebiet der Reindarstellung und der physikalisch-chemischen Erforschung des höchstgereinigten Diphtherietoxins lassen keinen Zweifel bestehen, daß es sich bei diesem Wirkstoff um ein spezifisches Protein handelt, dessen Teilchengröße der des Haemoglobins sehr nahekommt. Es fällt ein relativer Reichtum an aromatischen Aminosäuren, sowie an basischen Aminosäuren, besonders am Arginin auf. Der letzte Umstand im Zusammenhang mit der bei der Säuredenaturierung sowie bei der Formol- und Ketenentgiftung festgestellten Wichtigkeit der freien Aminogruppen für die Toxizität dieses Wirkstoffs, könnte als vielversprechender Hinweis für die zukünftigen Versuche zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus, sowie der Konstitution der Wirkgruppen des Diphtherietoxins betrachtet werden.

### 3. Toxinentgiftung

Es ist bisher keine rein physikalische oder chemische Toxinnachweismethode bekanntgeworden. Dadurch sind wir auch jetzt gezwungen, das Diphtherietoxin nur auf Grund seiner biologischen Eigenschaften zu identifizieren und zu dosieren. Das Toxin zeichnet sich durch folgende biologischen Partialfunktionen aus: seine Giftigkeit für Warmblütler und seine antigene Wirksamkeit, sowie durch seine Fähigkeit bei Einhaltung gewisser Milieubedingungen t°, pH, Elektrolyten) und Mengenverhältnisse der beiden Partner mit einem Diphtherie-Immunserum spezifische Flockung zu geben. Jede dieser Teilfunktionen ist sicher durch gewisse physikalische und strukturchemische Eigenschaften der Toxinteilchen bedingt. Dabei scheint die Toxizität mehr mit gewissen, wahrscheinlich ziemlich scharf begrenzten Stellen des Toxinteilchens verknüpft zu sein, während die antigene Wirksamkeit, sowie zum Teil auch die Flockungsfähigkeit mehr durch kolloidchemische Eigenschaften des Toxinmoleküls als Ganzem beeinflußt werden, natürlich aber auch von den die Toxinspezifität bedingten chemischen Strukturen abhängig sein müssen.

Diese Partialfunktionen des Diphtherietoxins werden durch einige chemische Substanzen verschieden stark angegriffen. Man kann die Toxizität zum Verschwinden bringen, während seine Ausflockbarkeit durch das spezifische Antiserum und die antigene Wirksamkeit erhalten bleiben. Die Dissoziation der Partialfunktionen des Diphtherietoxins mit Hilfe einiger chemischer Substanzen liegt der ganzen Produktion der nicht toxischen Schutzimpfstoffe zugrunde.

In der **Tabelle IV** geben wir einen Überblick über die durch verschiedene chemische Substanzen am Diphtherietoxin hervorgerufenen Veränderungen der Toxizität und seiner antigenen Wirksamkeit wieder.

**Tabelle IV**

| Agens | Wirkung auf Toxizität | Wirkung auf Antigene | Schrifttum |
|---|---|---|---|
| 1. Kohlenwasserstoffe aliphatische | Keine | | S. Schmidt (454, 455, 460, 461, 462) |
| 2. Kohlenwasserstoffe aromatische | Keine | | |
| 3. Halogenderivate aliphatische | Bisweilen vernichtende | | |
| 4. Halogenderivate aromatische (im Kern) | Keine | | |
| 5. Halogene in Seitenketten d. aromatischen Kohlenwasserstoffe | Zerstörende | | |
| 6. Nitro- u. Aminoderivate aromatische | Zerstörende | | |
| 7. Alkohole aliphatische: | | | |
| Methanol | Keine | Abschwächende | S. Schmidt (458); |
| Aethanol | Keine | Abschwächende | S. Schmidt und H. Hansen (349) |
| $C_3$, $C_4$ und $C_9$—$C_{16}$ | Keine | | |
| $C_5$ und $C_6$ | Starke zerstörende | | |
| $C_7$ und $C_8$ | Schwache zerstörende | | |
| 8. Phenole | Zerstörende | | |
| 9. Aldehyde: | | | |
| Formaldehyd | Siehe Text | | |
| Acetaldehyd | Schnell zerstörende | Langsam zerstörende | S. Schmidt (455, 457); A. Berthelot und G. Ramon (394) |
| $C_3$ und höhere Aldehyde | Zerstörende | | |
| Aromatische Aldehyde | Zerstörende | | |
| Furfurol | Schnell zerstörende | Langsam zerstörende | |
| Chlorierte aliphatische Aldehyde | Starke zerstörende | | |
| Azetale | Keine | | |
| 10. Aethyläther | Zerstörende | | S. Schmidt (458) |
| 11. Ketone: | | | S. Schmidt und H. Hansen (349); |
| Azeton | Keine | | |
| Methyläthylketon | Keine | Schwach zerstörende | A. Wadsworth u. a. (479) |
| 12. Carbonsäuren: | | | |
| Gesättigte ab von $C_5$ | Starke zerstörende | | |
| Halogenierte Säuren | Noch stärkere Wirkung | | S. Schmidt (459) |
| Oxysäuren | Starke zerstörende | | |
| Glyoxylsäure | Keine oder fast keine | | S. Schmidt (457) |
| Fumar- u. Maleinsäure | Keine | | |
| Ölsäure | Hüllenbildung | Keine | W. Larson u. a. (424, 425) |
| Ricinolsäure | Zerstörung | Keine | |
| Natriumoleat | Fast keine | | M. Bayliss (484) |
| Andere Seifen | Hüllenbildung, dann Zerstörung | Keine | Nelis (440) |
| 13. Glucose | Keine oder fast keine | | S. Schmidt (457) |

| Agens | Wirkung auf Toxizität | Wirkung auf Antigene | Schrifttum |
|---|---|---|---|
| 14. Lipoide:<br>Sterine (Lanolin)<br>Galle | <br>Abschwächende | <br>Keine<br>Keine | Eisler und Gottdenker (401)<br>Smith u. a. (463) |
| 15. Keten | Siehe Text | | |
| 16. Salvarsan, Germanin | Abschwächende | | H. Goldie (342, 409, 410) |
| 17. Sulfonamide:<br>Diazosulfanilsäure<br>Sulfanilamid | <br>Abschwächende<br>Fast keine | <br>Keine<br>Keine | Michelazzi (437) |
| 18. Salizylsäure<br>Oxynaphtholsäure | Abschwächende<br>Abschwächende | Keine<br>Keine | K. E. Birkhaug (395)<br>H. Vincent (476)<br>H. Vincent und L. Velluz (477) |
| 19. Redoxkörper<br>Ascorbinsäure, Glutathion, Adrenalin | Siehe Text | | |
| Dopa, Bilirubin, Homogentisinsäure, | Abschwächende | ./. | L. Velluz (474) |
| Redoxindikatoren | Zerstörende | ./. | F. C. Lin (431); P. Moloney und E. Taylor (438) |
| 20. Metalle:<br>Kupfer | <br>Abschwächende | <br>./. | Laubenheimer (426); Baumgartner und Luger (393) |
| Kolloidale Fe und Mn | Abschwächende | ./. | Le Fevre de Arric (427) |
| Goldorgan. Verbind. | Zerstörende | | Grasset (411) |
| 21. Schwefelkörper<br>Kolloidaler S | Zerstörende | | L. Velluz (472);<br>Scaglioni (450) |
| Schwefelkohlenstoff | Keine | | R. Agnoli (391); G. Rossi (448) |
| 22. Fermente:<br>Trypsin | Zerstörende | | N. Ray (447) |
| Papain | Zerstörende | | L. Velluz (473) |
| Takadiastase<br>Andere Diastasen<br>Lipase | Zerstörende<br>Keine<br>Keine | | Y. Anazawa (392) |
| 23. Andere Mikroben:<br>B. pyocyaneus | <br>Abschwächende | <br>./. | Duchon (400) |
| B. coli, cereus, proteus, sporogenes | Abschwächende | ./. | Stark, C. N., Stark, P. und Sherman, J. M. (468) |
| 24. Tetanustoxin | Gegenseitig abschwächende | ./. | Marinelli (436) |
| 25. Ultraviolettes Licht | Abschwächende | ./. | Welch und Megrail (481) |
| 26. Ultraschall | Abschwächende | ./. | Kasahara und Takagi (420) |

Aus dieser Zusammenstellung ersieht man, daß, außer den rein physikalisch chemischen Einwirkungen (Seifenhüllenbildung, Adsorption, Strahleninaktivierung) die Toxizität des Diphtherietoxins besonders gegenüber folgenden chemischen Körpern empfindlich ist:

1. **selektiv** — gegenüber den — CHO-Gruppen (Aldehyde, Glukose) — Methylenisierung der freien Aminogruppen und gegenüber dem Keten-$CH_2$ . CO — deren Azetylierung;

2. **gleichzeitig mit der antigenen Wirksamkeit** gegenüber allen stärker elektronegativen, ausgesprochen heteropolaren Verbindungen (Carbonsäuren, Halogenderivate der aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffe, Phenole, Nitroverbindungen.

Außerdem ist das Diphtherietoxin als Ganzes gegenüber den starken Mineralsäuren und -Alkalien, sowie den oxydierenden und reduzierenden Mitteln (Redoxindikatoren, körpereigene Wirkstoffe) und einigen Enzyinen empfindlich, was mit seiner labilen Proteinnatur im Zusammenhang stehen muß (siehe z. B. **O. Löwy** (433), **de Potter** (446), **Nélis** (439), **S. Schmidt** (456) u. a.).

Wegen ihrer praktischen Bedeutung (Herstellung von Formoltoxoiden), aber auch wegen gewisser mit diesen Fragen eng verbundenen theoretischen Erwägungen wollen wir die Probleme der Formalin- und Ketenentgiftung etwas eingehender behandeln.

Die Formalinentgiftung wurde zuerst von **Glenny** und **Sudmersen** (406) auf das Diphtherietoxin angewandt. Die entgiftende Wirkung des Formalins auf das Diphtherietoxin hat eigentlich schon **Salkowski** (449) festgestellt, ohne aber die gleichzeitige Erhaltung der antigenen Funktion zu berücksichtigen.

Das Verfahren ist später besonders durch die Arbeiten der Schulen von **Glenny, G. Ramon, S. Schmidt u. a.** weiter ausgebaut und eingehend erforscht worden.

Es gibt deutliche Unterschiede zwischen einer **„natürlichen"** (etwa durch Alterung. Säureeinwirkung u. a. hervorgerufenen) Umwandlung des Toxins in ein atoxisches **Toxoid** (im Sinne **Ehrlichs)** und der Bildung eines **Formoltoxoids** (oder Anatoxins) nach längerer Formalineinwirkung.

Die Bildung der „natürlichen" Toxoiden ist wenigstens teilweise umkehrbar. Bei den durch Erhitzung erhaltenen Toxoiden erlaubt die Aufbewahrung bei niederer Temperatur eine teilweise Wiedergewinnung der Toxizität zu erzielen (**S. Schmidt** (452). Auch die durch Säure inaktivierten Toxine können durch Realkalisierung ihre Toxizität zurückgewinnen. Besonders interessant ist in dieser Hinsicht die Beobach tung von **H. Schmidt** und **S. Scholz** (451), wonach die durch Alterung entstandenen Toxoide durch Zusatz von Pepton bzw. peptonhaltiger Bouillon die Eigenschaften des echten Toxins wiedererlangen können. Durch die Erweiterung und Abänderung der Versuchsbasis gegenüber den älteren Versuchen von **Walbum**, konnten **H. Schmidt** und **S. Scholz** ihre Auffassung über die Neubildung des Toxins auf Kosten der fermentativen Umwandlung des zugesetzten Peptons ablehnen, und das ganze Phänomen durch die Reversibilität der Reaktion Toxin — Toxoid erklären.

Demgegenüber sind die **Formoltoxoide** völlig irreversibel. Wenigstens ist es bis heute keinem gelungen (mit Ausnahme einer einzelnen, leider nicht reproduzierbaren Beobachtung von **H. Schmidt** (258, S. 458), das Formoltoxoid wieder toxisch zu machen. Außerdem unterscheiden sich die Formoltoxoide von den „natürlichen" Toxoiden und nativen Toxinen durch ihre erhöhte Resistenz gegenüber Wärme, Säuren, Alkalien und verschiedenen chemischen Verbindungen (**S. Schmidt** (453)).

Der Formalinentgiftungsvorgang wird durch Erhöhung der Formalinkonzentration, der Temperatur und des pH-Werts des Milieus (Optimum bei pH = 8,0—8,5) beschleunigt.

Toxine, deren Gehalt an Aminostickstoff hoch ist, brauchen mehr Formaldehyd zu ihrer Entgiftung als die aminostickstoffärmeren (**Glenny, Hopkins, Pope** (405)). Dialy-

sierte Toxine (sowie die überhaupt gereinigten) werden schneller und von kleineren Formalinkonzentrationen entgiftet (**Nelis** (441), **S. Schmidt** (453)). Weiterhin beobachteten **Park** und **Zingher**, daß die für die Toxinentgiftung nötige Formalinmenge von dem Gehalt des Toxins an Aminosäuren abhängig ist.

**Sdrodowski** und **Chalapina** (466) haben sogar die Formoltitration von Aminosäuren nach **Sörensen** in den Toxinlösungen zur Bestimmung der zur Toxinentgiftung nötigen Formalinmengen herangezogen. Sie fanden, daß diese Mengen kleiner sind, als die zur Absättigung aller Aminogruppen im Toxin nötigen Formolmengen.

**Kissin** und **Bronstein** (421) fanden, daß das Formoltoxoid weniger freier $NH_2$-Gruppen als natives Ausgangstoxin (nach **van Slyke** bestimmt) enthält. Diese Abnahme verläuft den Veränderungen des Säurequotienten (s. oben) parallel. Der Quotient ($NH_2$-N des Toxins) : ($NH_2$-N des Anatoxins) ist zahlenmäßig beinahe derselbe wie der Säurequotient. Sie glauben, daß eine Hälfte der Aminogruppen des Toxins für seine Toxizität, die andere für seine antigene Wirksamkeit verantwortlich ist. Nach diesem Sachverhalt schien es, daß die Methylenisierung der Aminogruppen des Toxins durch Formaldehyd das Wesen des Entgiftungsprozesses darstellt. Die Sache wurde bedeutend komplizierter als **Hewitt** (417) die Befunde und selbst die Methodik von **Kissin** und **Bronstein** scharf kritisierte, besonders den Umstand rügte, daß dabei nicht mit dem gereinigten Toxin, sondern mit der Toxinbouillon, die mindestens 99,5 % unspezifischer Proteine enthält, gearbeitet wurde. Er selbst fand, daß nur 15 % des Amino-N des Toxins durch Formalin gebunden wird, auch wenn so große Mengen von Formol zugegeben wurden, daß theoretisch der ganze Aminostickstoff gebunden werden könnte. Er vermutet, daß das Formalin irgendeine Veränderung dabei durchmacht. Es ist auch möglich, daß es sich mit mehreren Molekülen des Toxins (oder auch anderer Toxinbouillonbestandteile) vereinigt und zur Bildung von Polymerisaten des Toxins und Bouillonproteine führen kann.

**Leulier**, **Sèdaillan** und **Clavel** (428—430) beobachteten, daß das Formalin das gereinigte Toxin nur in Anwesenheit von Proteinen entgiften kann. Dieser Vorgang soll durch einen Zerfall der in älteren Bakterienkulturen angereicherten Nuklequotoiden begleitet werden. Diesen Körpern wird die Rolle des Schutzmittels der Toxizität gegenüber zugeschrieben. Auch **Bunney** (396) glaubte, daß das Formaldehyd erst sich mit den $NH_2$-haltigen Substanzen der Bouillon (Glutaminsäure) vereinigt und daß erst dieser Komplex das Toxin entgiftet.

Später zeigten **Holden** und **Freeman** (418), sowie **S. Schmidt** (453, S. 339), daß die Umsetzung des Toxins mit Formalin längere Zeit braucht, und daß die Reaktionsgeschwindigkeit von der Formalinkonzentration genau so abhängig ist, wie im Falle der Methylenisierung der Aminosäuren. **S. Schmidt** fand weiter, daß die gereinigten Toxine ebenso leicht wie die Rohtoxine in Formoltoxoide übergehen, wenn nicht zu große Formalinkonzentration angewendet wird (sonst kommt es zum Verlust der antigenen Wirksamkeit des Toxins). Dasselbe konnte man an einem gereinigten mit Phosphatpuffer verdünnten Toxin nachweisen (**Krestownikowa** und **Rjachina** (423)).

**S. Schmidt** (452) unterstreicht nochmals den grundlegenden Unterschied zwischen der Entstehung von „natürlichen" Toxiden und der Formolentgiftung und weist darauf hin, daß, während es beim ersten Prozeß zu keiner Änderung des Aminostickstoffgehalts des Toxins kommt, das Formoltoxoid weniger freie $NH_2$-Gruppen als das native Toxin enthält.

**L. Velluz** (469, 470) konnte dagegen keinen Unterschied bei der Methylenisierung einer gewöhnlichen und einer toxinhaltigen Bouillon finden. Das ist ganz leicht verständlich angesichts des enormen Mißverhältnisses zwischen den Mengen des Toxinproteins und denjenigen der übrigen Ballastproteine in Bouillon.

Es wurde auch die Frage aufgeworfen, ob das Formalin nicht die Rolle eines Katalysators der „natürlichen" Toxin-Toxoidumwandlung spielen könnte. Die bei der

Formolentgiftung auftretende Stabilisierung des Toxoids könnte dann als eine sekundäre Reaktion beobachtet werden. Gegen diese Auffassung sprechen viele Beobachtungen, z. B. über das Verhältnis zwischen der Formalinkonzentration und der Formoltoxoidbildungsgeschwindigkeit.

**Zusammenfassend** hat sich **S. Schmidt** (452) über die bei ungereinigten Bouillontoxinen gewonnenen Resultate folgendermaßen geäußert: man könnte annehmen, „daß das Toxin wirklich Aminogruppen enthält, und daß sich diese mit dem Formaldehyd verbinden. Daß die Entgiftung stattfinden kann, auch wenn nicht sämtliche Aminogruppen des Milieus von Formol gebunden sind (**Kissin** und **Bronstein** beobachteten bei der Formalinisierung den Verlust von ca. 50 %, **Hewitt** — von ca. 15 %, **S. Schmidt** — bis ca. 30 % des Gesamt-Aminostickstoffs der Toxinbouillon) könnte dadurch erklärt werden, daß die Aminogruppen des Toxins eine viel größere Affinität zum Formalin aufweisen als die Aminogruppen der unspezifischen Stoffe der Bouillon".

**Wadsworth, Quigley** und **Sickles** (478) konnten die Befunde von **S. Schmidt** bestätigen. Sie haben das durch Ultrafiltration gereinigte Diphtherietoxin geprüft. Die Reaktion war t °- und pH-abhängig und in gewissem Maße reversibel. Sie besteht eigentlich aus zwei Reaktionen — einer schnell verlaufenden und reversiblen und einer langsamen und nicht umkehrbaren (**Wadsworth, M. Pangborne** (480)).

Weiterhin schlossen **Follensby** und **Hooker** (402) aus ihren Versuchen, daß die Formolinaktivierung eine monomolekulare Reaktion sein muß; ihre Geschwindigkeit von der Formalin- und Hydroxylionenkonzentration, nicht aber von der Toxinkonzentration abhängig ist. Sie halten die Reaktion für eine durch Formol und OH-Ionen katalysierte Hydrolyse des Toxins.

Alle diese bisherigen Arbeiten haben den Nachteil, daß sie mit ungenügend gereinigten Toxinpräparaten ausgeführt wurden. Erst mit der Schaffung der höchstgereinigten Toxine ist die Möglichkeit für eine weitere erfolgsversprechende Bearbeitung dieser sehr komplizierten und wichtigen Frage gegeben.

Als erster Schritt in dieser Richtung ist die Arbeit von **M. D. Eaton** (399) zu bezeichnen. An seinem höchstgereinigten Diphtherietoxin beobachtete er im Laufe der Formalinentgiftung folgende Veränderungen:

1. Im nativen Toxin liegt ca. $^1/_7$ des Gesamtstickstoffs als Amino-N vor. Bei der Formalinisierung wird ca. $^1/_3$ dieser Amino-Gruppen irreversibel gebunden.

2. Die bei der Entgiftung auftretenden Veränderungen berühren diejenigen Toxinstellen nicht, die für die Antitoxinbindung verantwortlich sind, weil bei der Formoltoxoidbildung das Verhältnis Lf pro mg N unverändert bleibt.

3. Es treten dabei auch keine Veränderungen an den assymetrischen C-Atomen auf, da die ursprüngliche optische Drehung des Toxins = —45 ° unverändert bleibt.

4. Es tritt eine Abnahme des **Guanidin-N** (bestimmt nach **Sakagudie)** auf.

5. Es werden wahrscheinlich die Endgruppen der Seitenketten, nicht die Peptidbindungen des Toxinteilchens angegriffen.

Nach **L. Velluz** (471) handelt es sich bei irreversibler Formolinaktivierung der Mikrobentoxine um eine Reaktion des H.CHO mit der $NH_2$-Gruppe des Tryptophans, wobei anschließend noch eine Zyklisierung stattfinden kann, die zu einem **Harman**-Derivat führen kann. Dadurch wird aber gleichzeitig die serologische Spezifität des Toxins vernichtet.

Diese Befunde und Überlegungen wurden durch die Beobachtungen von **A. M. Pappenheimer u. a.** ergänzt. **H. Goldie** (407, 408) hat mit Hilfe der Durchleitung des **Ketens** ($CH_2$ . CO) die Aminogruppen in der Toxinlösung azetiliert. Es tritt dabei eine schnelle Entgiftung auf (nach der Besetzung von 54 % der Aminogruppen mit Azetyl fällt die Toxizität auf weniger als $^1/_{300}$ des Anfangswertes). Bei weiterer Azetilierung

wurde auch die antigene Wirksamkeit des Toxins erniedrigt, was bei gereinigtem Toxin schon bei der Besetzung von 45 % der Aminogruppen eintrat. Da das dialysierte, peptonfreie Toxin schneller als das nicht dialysierte durch Keten entgiftet wird, der Zusatz des azetylierten Peptons, aber, die Toxizität des Toxins nicht beeinflussen kann, glaubte **Goldie**, daß das Keten direkt auf das Toxinteilchen selbst, und nicht durch Vermittlung des anderen Nährbodenbestandteils einwirkt.

**Pappenheimer** (444) fand, daß es sich bei der kurzdauernden Keteneinwirkung bei pH = 6—7 in erster Linie um Azetylierung der endständigen Aminogruppen der Diaminosäuren ($\omega$-Aminogruppe des Lysins) handelt. Bei weiterem Ketenzusatz werden außer den Aminogruppen auch die Hydroxylgruppen des Tyrosins azetyliert. Das führt zum Verlust nicht nur der Toxizität, sondern auch der antigenen Wirksamkeit des Diphtherietoxins.

Man sieht aus der obigen Darstellung wie die Umrisse des Strukturbildes des Toxinteilchens allmählich immer deutlicher werden. Es ist deshalb berechtigt, von dem weiteren Einsatz der physikalischen und chemischen Forschungsmethoden eine weitergehende Aufklärung dieses äußerst schwierigen Gebietes zu erhoffen.

Eine andere theoretisch und praktisch sehr wichtige Toxinentgiftungs- und -zerstörungsart bildet seine Beeinflussung durch „physiologische" chemisch definierte Substanzen, wie durch Ascorbinsäure, Adrenalin, Corticosteron und Glutathion. Besonders eingehend wurde die toxinentgiftende Fähigkeit der Ascorbinsäure untersucht. Über die diesbezüglichen Erfahrungen über die prophylaktische und therapeutische Wirkung der Ascorbinsäure allein, sowie gemeinsam mit dem Nebennieren-Rindenhormon beim Menschen und beim Tier wird ausführlich im Kapitel V berichtet. (Siehe auch **O. Ehrismann** (614)). Hier besprechen wir die Versuche über die Diphtherietoxin-Neutralisation durch diese Körper in vitro.

**E. Harde** und **M. Philippe** (416) beobachteten, daß die Ascorbinsäure, mit dem Diphtherietoxin gemischt, dieses zu entgiften vermag. Sie beschädigt dabei die antigene Wirksamkeit des Toxins nicht. Ihre Wirkung ist wahrscheinlich zum Teil indirekter Art; es wird vermutet, daß bei der Einverleibung des Ascorbinsäure + Toxin-Gemischs beim Tier durch Ascorbinsäure eine gesteigerte Sekretion des Adrenalins hervorgerufen werden kann, die bei dem Toxinentgiftungsmechanismus in vivo eine wichtige Rolle spielen kann. **C. W. Jungeblut** und **R. L. Zwemer** (419) könnten mit 0,5—5,0 mg des Na-ascorbinats bei pH = 6,6—6,8 in $1/2$ Stunde bei Zimmertemperatur etwa 2 Dlm des Diphtherietoxins in vitro entgiften. Kleinere, sowie die größeren (bis 100 mg) Dosen des Na-ascorbinats erwiesen sich aber in dieser Beziehung als wirkungslos. Ebenfalls mit mittleren Na-ascorbinat-Dosen (10—20 mg pro 1—2 Dlm) erzielten **C. K. Greenwald** und **E. Harde** (412) die Toxinentgiftung in vitro. Gegenüber den höheren Toxindosen waren diese Na-ascorbinat-Mengen unzureichend. Die nicht neutralisierte Ascorbinsäure wirkt stärker als ihr Salz. 1 mgr Ascorbinsäure, vermischt mit $3^1/_3$ Dlm des Diphtherietoxins entgiftete in 18 Stunden bei Zimmertemperatur das Toxin soweit, daß 2 Dlm davon das Meerschweinchen nicht zu töten vermochten. Das pH des Gemisches betrug 4,0—4,4.

Weiterhin konnten **P. Polonyi** (445), **Schwarz** und **Cislaghy** (465), **Grotten** und **Bezsonoff** (414), **Hanzlik** und **Terade** (415), **J. Pakter** und **B. Schick** (443), sowie **J. Nitzesco, D. Timus** und **C. Angelesco** (442) die toxinentgiftende Wirkung der Ascorbinsäure in vitro bestätigen.

Daß es sich dabei nicht um die Wirkung der Ascorbinsäure, als einer Säure, sondern als eines Redoxkörpers handelt, haben **B. Ghosh** und **B. C. Guha** (403, 404) nachgewiesen. Eine ähnliche Wirkung auf die Diphtherie (und Tetanus-) Toxine besitzen auch solche Redoxkörper, wie Zystein, Glutathion und Hydrochinon.

**S. Yokoyama** (482) sah, daß 10 mg kristallinische Ascorbinsäure 2 Dlm, deren 50 mg —9—40 Dlm des Diphtherietoxins entgiften können. Die Ascorbinsäure wirkt

auf das Diphtherietoxin desto schwächer, je höher der pH-Wert der Lösung ist. Bei pH = 8,4 hört ihre Wirksamkeit völlig auf. Es handelt sich dabei nicht so sehr um die Neutralisation der Ascorbinsäure als Säure, als vielmehr um die Labilisierung ihrer wirksamen Red-Form, die bei höherem pH schneller irreversibel in die Diketogulonsäure übergeht. Es hat sich gezeigt, daß die einstündige Durchleitung von Sauerstoff durch 0,1%ige Lösung der Red-Form der Ascorbinsäure ihre toxinentgiftende Wirksamkeit vernichtet. Dagegen wird das durch die Red-Form der Ascorbinsäure entgiftete Diphtherietoxin bei der $O_2$-Durchleitung nicht reaktiviert.

Als eine weitere Stütze für die Auffassung über die Redox-Wirksamkeit der Ascorbinsäure ist die Tatsache anzuführen, daß von verschiedenen Säuren bei pH = 3,4 nur die Oxal- und Essigsäure das Toxin deutlich abschwächen können; HCl wirkt schwächer, Äpfel- und Zitronensäure sind überhaupt ohne Wirkung. Von anderen Redoxsubstanzen entgiften das **Glukoredukton** das Diphtherietoxin stärker als die Ascorbinsäure oder das Glutathion.

**A. Sigal** und **C. G. King** (467) sahen ebenfalls, daß bei pH größer als 6 die Ascorbinsäure das Diphtherietoxin nicht entgiften kann. Bei pH = 3 geht die Inaktivierung schnell vor sich, so daß nach 24 Stunden praktisch das gesamte Toxin entgiftet ist. Daß man daraus aber nicht auf die alleinige Wirkung der Säurefunktion der Ascorbinsäure schließen kann, ist nach dem oben gesagten völlig klar.

Um die Frage zu beantworten, ob die Wirksamkeit der Ascorbinsäure sich nur auf die toxische Funktion des Toxinteilchens erstreckt, untersuchten **E. Schultz** und **U. Hecht** (464) die Wirkung von mittleren Dosen des Na-ascorbinats bei pH = 6,6—6,8 auf die Fähigkeit des Toxins die Tiere spezifisch zu immunisieren. Es hat sich dabei herausgestellt, daß bei den Konzentrationen von 83,3 mg % das Na-ascorbinat die antigene Wirksamkeit des Diphtherie-Formoltoxoids abschwächt, während die kleineren (8,3 und 16,6 mg %), sowie die stärkeren (ab von 192,3 mg %) Konzentrationen unwirksam sind. Das steht mit den Befunden von **Jungeblut** und **Zwemer** über die ausschließliche Wirksamkeit von mittleren Ascorbinsäuredosen auf die Toxizität des Diphtherietoxins im Einklang.

**J. Dieckhoff** (397) bestätigte diese Befunde von **Schultz** und **Hecht.**

Eine ähnliche entgiftende Wirkung wie die Ascorbinsäure übt auf das Diphtherietoxin ein anderer „körpereigener" Wirkstoff — das **Glutathion** in vitro aus. Diese Verhältnisse untersuchte P. **Locatelli** (432) besonders eingehend (s. auch **H. Vincent** (475)). Sie fand, daß, um die Entgiftung des Toxins herbeizuführen, das Glutathion eine gewisse Stehzeit gebraucht. In saurem Milieu ist die Entgiftung wirksamer als im neutralen oder alkalischen. Wenn das Diphtherietoxin in einer Lösung des reduzierten Glutathions den Meerschweinchen eingespritzt wird, überleben sie die Intoxikation und weisen keine automatischen Veränderungen in ihren Nebennieren auf.

Wenn man das Diphtherietoxin mit Glutathion und Ascorbinsäure vermischt, 24 Stunden im Brutschrank aufbewahrt, dann verliert es völlig seine giftigen Eigenschaften (**Z. Kovacs** (422)).

Weiter ist der Befund von **F. v. Gröer u. a.** (413) noch aus dem Jahre 1914 von Interesse, daß das **Adrenalin** das Diphtherietoxin entgiften kann. In einer neueren Arbeit hat er mit seinen Mitarbeitern gezeigt, daß es die **Diphenolkomponente** des Adrenalins ist, die dabei auf das Toxin einwirkt. Ein Gramm von Brenzkatechin oder Hydrochinon (o- und p-Diphenol) können in vitro 30.000 Dlm des Diphtherietoxins entgiften. Die Entgiftung beginnt nach vier Stunden Stehen bei 37 ° und erreicht ihr Maximum nach 12—18 Stunden. Die Wirkung erfolgt auch ohne Sauerstoffzutritt. Das Toxin verliert dabei nicht nur seine Toxizität, sondern auch seine antigene Wirksamkeit. Interessant ist, daß das **Resorzin** (m-Diphenol) keine toxinzerstörende Wirkung ausübt, was auf die Bedeutung der sterischen Verhältnisse bei der Toxinzerstörung hinweist.

Auch **D. C. Marie** (434, 435) beobachtete, daß das Adrenalin und seine Salze das Diphtherie (auch das Tetanus-) toxin in vitro neutralisieren. Es wird vermutet, daß das Diphtherietoxin durch Adrenalin oxydiert wird, daß gleichzeitig auch die Bildung von Antikörpern gegen das Di-Toxin günstig beeinflußt wird.

Die Befunde von **R. L. Zwemer** und **C. W. Jungeblut,** wonach die ungereinigten Nebennierenrindenpräparate, die etwa 1 gr der Nebennierenrinde entsprechen, 2 Dlm des Diphtherietoxins in 1/2 Stunde bei Zimmertemperatur entgiften können, ist vermutlich auf eine Beimengung von Adrenalin und seiner Oxydationsprodukte zurückzuführen.

#### 4. Diphtherietoxin und Bakterienproteine

Neben der Frage über die chemische Konstitution der Teilchen des Diphtherietoxins und der für sie charakteristischen Reaktionen, stand schon seit dem Anfang der Diphtherieforschung das Problem der Genese des Toxins im Mittelpunkt mehrerer Untersuchungen. Die Fragen, die dabei zur Beantwortung standen, lauten:

1. Wo das Toxin entsteht — ob in der Bakterienzelle selbst oder erst im umgebenden Nährsubstrat. Falls die Toxinbildung im Zellinneren stattfindet.

2. Auf welchem Wege das gebildete Toxin in die Flüssigkeit gelangt — durch einen Sekretionsakt oder durch die Auslaugung von abgestorbenen oder lebendigen Keimen.

3. Ob das Toxin in der Zelle schon als fertiges Produkt vorliegt oder wird es erst beim Übertritt in das Milieu aktiviert.

4. Sind die von dem Toxin befreiten Bakterienleiber noch imstande Reaktionen im Warmblütlerorganismus hervorzurufen und wodurch diese bedingt sind.

In den zwanziger Jahren dieses Jahrhunderts standen zwei Auffassungen über den Bildungsort des Diphtherietoxins entgegen. Die älteren Arbeiten von **E. Roux** und **A. Jersin, H. Kossel** (498) und **Murillo** (504), sowie die neueren Untersuchungen von **K. Fukutaki** (492), **M. Eisler** und **N. Kovacs** (490), **Eisler** (489) und von **J. Hirsch** (497), sowie **Fujioka** (491) sprachen zugunsten der Ansicht, daß das Toxin in den Bakterienzellen gebildet wird. Es übertritt zum größten Teil durch Auslaugung der abgestorbenen Bakterienleiber in das umgebende Milieu. Für eine aktive Sekretion des Giftes wurden keine sicheren Grundlagen gefunden. Man kann das Toxin aus den abgetöteten und gewaschenen Bakterienzellen durch Extraktion in wässerigen Lösungen erhalten. Die Bedingungen, unter denen diese Extraktion vor sich geht (pH, t°, Salzgehalt, Alter der Kulturen, Wassergehalt der Bakterienzellen) wurden besonders eingehend von **J. Hirsch** (497) untersucht. Er fand, daß das destillierte Wasser aus trockenen Diphtheriebakterien erhebliche Mengen von N- und P-haltigen Bestandteilen extrahieren kann. Die Extrakte töten Meerschweinchen unter typischen Erscheinungen eines Diphtherietodes; die Toxizität ist unabhängig von dem N-Gehalt der Extrakte. Die Abgabe des Toxins an die Extraktflüssigkeit erfolgt momentan, während der N erst allmählich hineindiffundiert. Die Menge des gelösten Stickstoffs ist der angewandten Substratmenge proportional, während das Toxin durch konzentrierte Extraktionsgemische besser ausgezogen wird. Beim Alkalisieren wird mehr Toxin als N extrahiert. Die Toxinextraktion ist wahrscheinlich mit einem Quellungsvorgang verbunden.

Aus den älteren Kulturen wird mehr Toxin, aber weniger P extrahiert. Die Extrakte aus toxischen Stämmen sind N- und P-reicher als die aus atoxischen.

Die Extraktionsgifte werden genau wie die gewöhnlichen Bouillongifte an der Tonerde adsorbiert; die beiden Toxinarten scheinen identisch zu sein.

1923 veröffentlichten **K. G. Dernby** und **L. E. Walbum** (486) ihre Experimente, denen zufolge beim Zusatz von Pepton bzw. peptonhaltiger Bouillon zu den toxin-

haltigen Kulturfiltraten die Toxizität dieser Lösungen bedeutend zunehmen sollte. Daraus haben sie den Schluß gezogen, daß das Diphtherietoxin im Nährboden selbst aus den im vorhandenen Albumosen und Peptonen unter dem Einfluß der von Diphtheriebakterien sezernierten Proteinasen entstehen muß. Diese Proteinasen sind in den zerriebenen und pulverisierten Diphtheriebakterien nachweisbar. Sie gehören zu den Endofermenten (die Diphtheriebakterien sezernieren keine extrazellulaer wirksamen Proteinasen). Sie verflüssigen Gelatine, spalten Pepton, haben ihr pH-Optimum bei pH = 6.0—7.0 und gehören zu Tryptasen. Sie können vermutlich bei längerer Einwirkungsdauer das in der Kultur enthaltene Diphtherietoxin (**Dernby** und **Siwe** (487)).

Der Eiweißgehalt solcher Kulturen nimmt ab, während der Amino-N zuerst ansteigt. Nach dem Überschreiten eines Maximums der Toxizität, tritt ihre Abnahme ein. Nach Vorstellungen von **Dernby** bilden die Diphtherie-Endotryptasen das Diphtherietoxin auf Kosten der Bouillon- und Bakterien-Albumosen und Peptone. Bei der weitergehenden Proteolyse verlieren diese Spaltprodukte an Toxizität (**Dernby** (488)). Außer durch eigene Endoproteinasen werden die Diphtherietoxine auch durch Trypsin, Erepsin, Hefetryptase, Pyocyanase, Prodigiosus- und Leukozytenfermente zerstört.

Diese Theorie ist aber, wie sich später herausgestellt hat, als nicht zutreffend zu bezeichnen. Erstens haben **H. Schmidt** und **W. Scholz** (451) gezeigt, daß es sich bei der beobachteten Toxizitätszunahme nach dem Peptonzusatz um eine Rückwanderung und Reaktivierung des durch Alterung entstandenen Toxoids handelt, keineswegs aber um eine Neubildung des Toxins in bakterienfreiem Medium nur mit Hilfe der in diesem Medium vorhandenen Diphtheriebakterien-Proteinasen. Das Diphtherietoxin ist einheitlich, tritt aber in verschiedenen Dispersitätsgraden auf. Zunächst bildet sich aus Albumosen ein ungiftiges hochdisperses Toxon, das nachher unter Dispersitätsabnahme in das giftige **Toxin** und schließlich in das ungiftige **Toxoid** übergeht. Die typische Diphtherie-Toxinwirkung ist an einen bestimmten Dispersitätsgrad gebunden. Durch Verdünnung der Toxoidlösung mit Bouillon oder durch Peptonzusatz wird das Toxoid wieder höher dispergiert und toxisch. In solcher Weise sei die Toxingiftigkeitssteigerung nach dem Bouillon- resp. Peptonzusatz zu erklären.

**R. Prigge** (505) hat dann gefunden, daß die von **Dernby** und **Walbum** beobachtete Toxinneubildung beim Peptonzusatz zur bakterienfreien Toxinlösung statistisch ungenügend gesichert ist, da die Toxizitätsbestimmungen an einer zu kleinen Anzahl von Tieren ausgeführt wurden. Bei einer Nachprüfung unter Einhaltung der zur statistischen Sicherung der Resultate führenden Kautelen konnte **R. Prigge** keinen toxizitätssteigernden Einfluß des Peptons in der Toxinbouillon feststellen. Weiterhin hat er einwandfrei festgestellt (und damit die älteren Ergebnisse von **Eisler** und **Kovacs**, **Fukutaki u. a.** bestätigt), daß die Leibessubstanz abgetöteter, gewaschener, getrockneter und pulverisierter Diphtheriebakterien im Tierexperiment dieselben Wirkungen wie die toxischen Kulturfiltrate hat. Dieses Zelltoxin ist in demselben Maße wie das Filtrattoxin thermolabil und durch Immunserum neutralisierbar.

Dieses Zelltoxin konnte nicht durch Pressung in der **Buchnerschen** Presse, wohl aber durch Extraktion der abgetöteten Diphtheriebakterien mit Kochsalzlösung von den Zelleibern abgetrennt werden. Nach der Erschöpfung des in den Bakterien vorhandenen extrahierbaren Toxinvorrats durch mehrmalige Extraktion, sammelten sich in den Zellen nach mehrtägigem Stehen neue Toxinmengen an und konnten wiederum durch Extraktion mit Kochsalzlösung gewonnen werden. Wahrscheinlich ist diese Ansammlung neuer Toxinmengen in Bakterienleibern mit ihrem postmortalen Abbauprozeß zu verbinden.

Aus diesen Beobachtungen schloß **Prigge**: 1. daß die Theorie von **Dernby** und **Walbum** unhaltbar ist und 2. daß das Toxin ein Bestandteil der Bakterienzelle selbst sein und nach ihrem Absterben passiv von der umgebenden Flüssigkeit ausgelaugt werden

muß. Die Rolle des Peptons könnte etwa die eines Beschleunigers der Toxinextraktion, vermöge seiner Grenzflächenspannung erniedrigenden Wirkung oder die eines Stabilisators des aus den Zellen ausgetretenen Toxins sein.

Man ist eigentlich noch den Nachweis schuldig geblieben, daß die Toxinbildung dem Bakterienwachstum parallel verläuft. Im Gegenteil, man beobachtete wiederholt, daß die Diphtheriebakterien sich üppig entwickeln, ohne nennenswerte Toxinmengen produzieren zu können. Dies ist zum Teil durch die Individualität der Stämme selbst, teilweise aber durch die Zusammensetzung des Nährbodens, bedingt. So bewirkt das Zystin eine deutliche Wachstumsverbesserung ohne die Toxinbildung zu begünstigen, während Arginin und Histidin gerade die Toxinproduktion steigern können. Auch die Wachstumsstadien der Kultur sind für die Toxinausbeute maßgebend. Anfänglich herrscht eine Übereinstimmung zwischen der Toxinanhäufung und dem Bakterientrockengewicht, später aber fangen die autolytischen Vorgänge an, zu überwiegen, die zu einer Trockengewichtabnahme bei gleichbleibender Toxizität der Lösung führen. (**Leulieu, Sèdaillan, Clavel** (429, 430)).

Es taucht jetzt eine wichtige Frage auf. Man weiß noch nicht, ob das in vitro erhaltene Toxin mit dem in vivo wirksamen Körper oder Körperkomplexe, identisch ist.

Eine ganz eigentümliche und in der bisherigen Literatur vereinzelt gebliebene Anschauung über die Natur des Diphtherietoxins und seine Beziehungen zu den Blutserumproteinen hat **W. N. Kryschanowski** in seinen vier Veröffentlichungen dargelegt (499—501). Er ist von der Hypothese von **L. E. Walbum** (509) ausgegangen, wonach das Diphtherietoxin im tierischen Körper als eine Verbindung von dem durch Diphtheriebakterien gebildeten „**Protoxin**" mit den Albuminen und sonstigen Proteinen des tierischen Organismus entstehen soll. **Kryschanowski** stellt sich das Diphtherietoxin als eine Art von „prostethischer Gruppe" vor, die in vitro wie auch in vivo von einer Bluteiweißfraktion zur anderen mehr oder weniger umkehrbar übergehen kann. Das „Protoxin" soll eine besonders starke Affinität zum Fibrinoglobulin haben, so daß immer, wenn ein nicht denatuiertes oder durch andere Substanzen blockiertes Fibrinoglobulin vorliegt, das Protoxin sich vorwiegend mit dieser Fraktion vereinigt. Beim Fehlen oder ungenügenden Mengen des disponierbaren Fibrinoglobulins kann sich das Protoxin vorwiegend an Albumin und andere Serumproteine binden. Diese Bindung kann mehr oder weniger umkehrbar sein und beim Zusatz von fibrinoglobulinhaltigen Stoffen (frisches Blut oder Serum) mehr oder weniger leicht sich unter Abgabe des Protoxins an das Fibrinoglobulin auflösen. Die Reversibilität der Protoxin-Albumin-Verbindung soll bei ihrem Altern sich verlieren. Wenn das Protoxin sich mit dem Fibrinoglobulin vereinigt hat, wird es vom Autor als **Virulenzfaktor** bezeichnet und für die Virulenz der Diphtheriebakterien im Tierkörper in erster Linie verantwortlich gemacht. Wenn es aber eine Verbindung mit Albumin eingeht, wird es — der **Toxizitätsfaktor genannt** und von ihm soll die Toxizität der Keime abhängen.

Außer diesen zwei Toxinarten, die nur toxisch, nicht aber antigen wirksam sind, schreibt **Kryschanowski** den Diphtheriestämmen noch die Fähigkeit zur Ausbildung von gleichzeitig toxischen und antigenen Protoxin-Euglobulin bzw. Pseudoglobulin-Verbindungen zu. Diese Verbindungen sollen besonders stark von sog. toxigenen Stämmen gebildet werden, dessen Protoxin mit dem Albumin zu, in der ersten Zeit lockeren, adsorptiven, schwach toxischen Komplexen sich verbindet. Infolge ihrer Reversibilität müssen diese an und für sich antigen nicht wirksamen Albuminkomplexe ihr Protoxin leicht an die Globuline abgeben. Diese antigenwirksamen Protoxin-Globulin-Komplexe sind desto aktiver, je weniger toxisch sie sind, und je stärker in ihnen die Globulin- über der Protoxinquote überwiegt.

Darin sah **Kryschanowski** den grundsätzlichen Unterschied zwischen den sog. virulenten und toxigenen Diphtheriestämmen; bei den ersteren sind nur die Protoxin-Globulin-Verbindungen gleichzeitig toxisch und antigen wirksam; die Protoxin +

Fibrinoglobulin bzw. + Albumin-Verbindungen sind nur toxisch, nicht aber antigen wirksam. Bei den anderen — toxigenen — Stämmen vermögen die an sich auch nicht antigenwirksame Protoxin-Albuminkomplexe, infolge ihrer leichten Dissoziierbarkeit, das Protoxin an die antigen wirksame Globuline abzugeben. Bei ihnen sollen also auch die Albuminkomplexe indirekt antigen wirken.

Auf Grund dieser Vorstellungen entwickelte der Verfasser in weiteren Arbeiten eine Hypothese über die Natur der einzelnen bei der Serotherapie wirksamen Komponenten des Heilserums, sowie über die antiinfektiöse Wirkung dessen Euglobulins, das er als zweite Immungruppe des Immunserums bezeichnete (die erste soll das an Pseudoglobulin gebundene Antitoxin sein).

Dieser ganze umfangreiche Fragenkomplex beruht in erster Linie auf der Hypothese, nach welcher das von den Diphtheriebakterien ausgearbeitete Protoxin eine Art des leicht dissoziierbaren Anteils des Toxinteilchens darstellen muß, dessen „Apoferment" die entsprechenden Blutserumproteine liefern sollen.

Aus den obenzitierten neueren Arbeiten wissen wir, daß das Diphtherietoxin auch in einem völlig eiweißfreien synthetischen Nährboden entstehen kann; seine Bildung ist also nicht unbedingt an die Anwesenheit von fremden Proteinen gebunden. Daß das Diphtherietoxin selbst ein Protein ist, kann als sichergestellt betrachtet werden. Daß solche Eiweißsubstanz je nach den Milieubedingungen verschiedene Teilchengröße besitzen kann, ist nach dem, was wir über die Labilität der Teilchengröße von verschiedenen Proteinen wissen, ohne weiteres möglich. Besonders in Anwesenheit von verschiedenen Serum- und Organproteinen im Tierkörper könnte es sehr leicht zu ihrer Vereinigung mit den Toxinteilchen kommen. Solche interkolloidale können sowohl mit einer Vergrößerung sowie mit einer Verminderung des Dispersitätsgrades des entstehenden Symplexes einhergehen. Dabei können auch die verschiedenen biologisch wichtigen Eigenschaften der miteinander reagierenden Partner weitgehende Veränderungen erleiden.

Wegen der großen Wichtigkeit dieser Fragen wäre natürlich sehr wünschenswert, daß die entsprechenden Versuche mit den modernen höchstgereinigten Toxinpräparaten, unter Berücksichtigung unserer heutigen Kenntnisse über die Struktur der Teilchen der Serumproteine, wiederaufgenommen und fortgesetzt werden.

**D. V. Bori** (485) überprüfte die 1938 von **Pacchioni** aufgestellte Hypothese, nach welcher das Diphtherietoxin als eine Art Ferments aufzufassen sei, das beim Zusatz zum Kaninchen- bzw. zum Meerschweinchenfleisch in vitro ein „sekundäres" Diphtheriegift bildet. **Bori** fand, daß dieses „sekundäre" Toxin 20 mal giftiger als die es erzeugende Menge des Kulturfiltrat-Toxins ist. **Semah** (508) glaubte nachweisen zu können, daß die Extrakte aus dem Blut und Organen der an einer subkutanen Diphtherieinjektion verstorbenen Meerschweinchen in geringen Mengen neuen Meerschweinchen eingespritzt, in einem beträchtlichen Prozentsatz zu typischen diphtherotoxischen lokalen Veränderungen und zum Toxintode der Tiere führen.

**R. A. R. O Meara** (503) entwickelte die folgende Hypothese. Das Diphtherietoxin besteht aus zwei Substanzen: A und B. Die **Substanz A** ist in größeren Mengen im Reagenzröhrchentoxin enthalten und für Meerschweinchen stark toxisch. Die **Substanz B** wird in vitro sehr wenig gebildet, während sie bei hypertoxischen Diphtherieerkrankungen des Menschen in äußerst großen Mengen entsteht. Die Substanz B soll, wenn im Überschuß vorhanden, die Durchdringung der Gewebe mit der Substanz A fördern. Es kommt durch ihre Wirkung zur Entwicklung stärkerer lokaler Erscheinungen, zu größeren Oedemen und Nekrosen, sowie zu häufigeren Lähmungen. In dieser die Toxindiffusion begünstigenden Wirkung der Substanz B könnte man eine gewisse Ähnlichkeit mit dem **Duran-Reynalschen Diffusionsfaktor** — Hyluronidase sehen (**H. Schmidt** (507)).

Alle diese Anschauungen und Befunde wurden bisher noch nicht von anderen Autoren einer kritischen Überprüfung unterworfen.

Von ebenso großem Interesse ist die Frage über die pathogenetische Bedeutung der toxinfreien Proteine, der Bakterienkörper, also die Frage der Diphtherie-Endotoxine **(Dessy** (511)**)**.

**R. Prigge** hat gezeigt, daß die vom Toxin befreiten Bakterienkörper der Diphtheriebakterien für Meerschweinchen völlig atoxisch sind.

**H. Goldie** (493) fand, daß die mit Immunserum gewaschenen Bakterienzellen selbst kein Toxin haben, bei ihrer Autolyse aber ein Körper entsteht, der beim Meerschweinchen Abszesse macht und durch spezifisches Serum nicht neutralisiert wird. Als Folge der Einverleibung dieser Substanz geht das Tier an einer Kachexie ein. Die gegen Diphtherie immunisierten Tiere besitzen diesem Körper gegenüber eine größere Abwehrkraft als die ungeimpften; sie unterliegen der Intoxikation nicht, geben eine stärkere lokale Reaktion und entwickeln bei intraperitonealer Endotoxinverleibung ein polynukleäres Exsudat.

Bei Mäusen ruft diese endozelluläre Substanz (494—496) an der Stelle der Injektion eine große Nekrose sowie das allgemeine Vergiftungsbild hervor (mit Durchfällen und Lähmungen). Die endozelluläre Substanz ist thermostabil, bei stärkerer Erhitzung erleidet sie, aber, einen Toxizitätsverlust (3). Sie ist auch gegen Säure und Alkohol resistent; lipoidlösende Mittel schwächen ihre Wirksamkeit ab. Es wird daraus gefolgt, daß es sich hierbei um Lipoproteinkomplexe handeln kann.

## V. Pathologische Physiologie der Wirkung des Diphtherietoxins unter Berücksichtigung der einzelnen Gewebe und Organe und der dadurch bedingten Stoffwechselstörungen

Das Wachstum der Diphtheriebakterien im infizierten Organismus führt zu zweierlei Störungsgruppen. Es kommt einerseits am Orte der Ansiedlung der Keime zur Ausbildung von lokalen Veränderungen, die meistens die Form einer fibrinösen Entzündung annehmen. Andererseits beobachtet man bei der Menschendiphtherie eine Reihe von krankhaften Erscheinungen, die auf die allgemeine Toxinvergiftung des Organismus zurückzuführen sind.

Bei der Entstehung von lokalen Schädigungen auf den Schleimhäuten und Wundflächen spielen folgende Momente eine wichtige Rolle: a) das Haften der angesiedelten Keime an der Oberfläche der befallenen Schleimhäute oder Wundflächen; b) die schädigende Wirkung des von Bakterien gebildeten Toxins (möglicherweise auch anderer spezifischer oder unspezifischer Wirktstoffe der Keime) auf das unterliegende Gewebe; c) Diffusion von diesen Wirkstoffen durch das Gewebe; d) Einwirkung der hereindiffundierten Wirkstoffe auf die Wände der in diesem Gewebe verlaufenden Blutgefäße, die zu ihrem Undichtwerden und zum Austritt von verschiedenen Blutbestandteilen ins Gewebe bzw. auf seine Oberfläche führt. Über den näheren Mechanismus dieser Teilvorgänge, sowie über die dabei tätigen Wirkstoffe der Diphtheriebakterien und des infizierten Organismus selbst kann man sich zur Zeit kein einheitliches Bild machen. **H. A. Gins, G. Kroemer** und **Th. Link** (514) haben in histologischen Präparaten die nach einer subcutanen Infektion mit 24-stündigen Diphtheriekulturen bzw. nach einer intrakutanen Injektion von Diphtherietoxin beim Meerschweinchen in der Haut auftretenden morphologischen Veränderungen verfolgt. Während ein Teil der Tiere vor dem Versuchsbeginn durch mehrmalige Injektion von untertödlichen Mengen von lebenden Diphtherie-Bazillenkulturen bzw. von Diphtherietoxin aktiv immunisiert wurde, blieben die anderen nicht vorbehandelt und haben als Kontrolle gedient.

Die betreffenden Hautstücke wurden durch Exzision ½, 1, 3 und 24 Stunden nach der Infektion bzw. Intoxikation entnommen und histologisch untersucht. Bei den nicht vorbehandelten, mit Diphtheriebakterien infizierten Tieren erlitten die, nach einer halben Stunde noch ganz locker im Gewebe zerstreuten, Bakterien in Verlaufe weiterer Stunden eine Agglomeration zu Haufen. Schon nach einer halben Stunde kam es zur Leukozytenansammlung in einem Teil der Blutgefäße der infizierten Haut und zur Ausbildung von kleineren perivasculaeren Infiltraten. Auch die Bakterienphagozytose, vorwiegend durch Neutrophile, war schon zu dieser Zeit lebhaft im Gange. In späteren Stunden nimmt die Leukozyteninfiltration des bakterienhaltigen Gewebes und die Phagozytose stark zu, die freiliegenden Bakterienhäufchen kommen kaum mehr vor.

Nach 24 Stunden ist das Gewebe stark mit Leukozyten infiltriert, die Bakterien sind nur in Leukozyten als Körner und Bakterientrümmer zu erkennen. Die Leukozyten und deren Reste bilden neben dichten, ausgedehnten Infiltraten noch eine Reihe von lockeren Anhäufungen, aus Polynuklearen und einkernigen Makrophagen bestehend.

Die Reaktionen der **vorbehandelten** Tiere zeichnen sich durch die größere Intensität und den früheren Anfang der Leukozytenemigration und der Phagozytose, sowie durch eine schnellere Agglomeration von Bakterien aus. Nach 24 Stunden ist der Umfang der Infiltrate erheblich geringer als bei den nichtvorbehandelten Meerschweinchen und der ganze Prozeß scheint im Rückgang zu sein.

Bei den mit Di-Toxin vergifteten nicht vorbehandelten Tieren kam es ebenfalls in den ersten Stunden zu einer Infiltration des Schädigungsstandes mit Leukozyten, diesmal vorwiegend mit einer oxyphylen Körnelung. Später überwiegen auch hier die Neutrophylen. Die ausgewanderten Leukozyten verfallen schnell einer Degeneration, die in ihren anfänglichen Stadien durch Karyopyknose ausgezeichnet ist.

Bei den immunisierten Meerschweinchen tritt auch in diesem Falle die Leukozytenauswanderung schneller und stärker ein. Auch hier verläuft die Abwehr schneller als bei den nicht vorbehandelten Tieren; die Leukozytendegeneration ist kaum bemerkbar. Es fällt dabei nach 24 Stunden eine reichliche Durchtränkung des Gewebes mit einem fibrinösen Exsudat, sowie das Auftreten von zerstreut liegenden, 6-10 Mikronen großen kristallinischen Körpern und kleiner runder dunkelfarbiger Körnchen auf, die von den Verfassern auf die Toxin-Antitoxin-Reaktion im Gewebe zurückgeführt werden.

Auch **J. Hammerschmidt** (515) konnte im Tierversuch zeigen, daß sowohl bei den aktiv wie bei den passiv immunisierten Meerschweinchen die Diphtherieabwehr auf einem rein leukozytären Mechanismus beruht; außerdem scheint die Zusammensetzung der Gewebsflüssigkeiten auf das Wachstum der einverleibten Diphtheriebakterien eine gewisse Wirkung auszuüben. So entwickeln sich die Diphtheriebakterien, die den diphtherieunempfindlichen Ratten in die subkutan eingebrachten Agarblöcke eingespritzt wurden, nur in den körperfernen zentralen Agarpartien zu größeren und zahlreicheren Kolonien, während sie an der Agarperipherie seltener und kleiner sind. Bei den diphtherieempfindlichen Meerschweinchen liegen die Verhältnisse umgekehrt: es scheint als ob die Gewebssäfte von Meerschweinchen die Entwicklung von Diphtherie-Agarkulturen in vivo fördern, die der Ratten-Gewebssäfte sie dagegen zu hemmen imstande sind.

Bei den nichtvorbehandelten Tieren wird die Phagozytose der Diphtheriebakterien außerdem durch Toxineinwirkung paralysiert und es kommt dabei zu einem größeren Leukozytensterben im Gewebe.

Das Diphtherie-Heilserum zeigt dabei keine bakterizide oder opsonische Wirksamkeit auf.

Es sei in diesem Zusammenhange auch auf das von **H. Dold** (512, 513) und seine Schule aufgerollte und von mehreren Forschern mit verschiedenem Erfolge bearbeitete Problem der Beeinflussung der Vitalität, Virulenz und Morphologie der Diphtheriebakterien durch Speichel, Nasenschleim, Milch und andere Körperflüssigkeiten und deren zellfreie Filtrate, hingewiesen. Andererseits eröffnete die Entdeckung und Erforschung des sog. **Duran-Reynalschen Diffusionsfaktors** (507) neue Wege beim Studium der Ausbreitung von verschiedenen gelösten, sowie korpuskulären Elementen im Unterhautzellgewebe, sowie überhaupt in den mit Bindegewebe ausgefüllten Lücken zwischen einzelnen parenchymatösen Organen. Es handelt sich dabei um sog. **Hyaluronidasen**, d. h. eine Fermentgruppe, die die verschiedenen Körpermuzine und -mukoide (N-haltige Polysaccharide) zu hydrolisieren vermögen. Die Übertragung dieser neueren biochemischen Erkenntnisse auf die Pathogenese der Tier- bzw. Menschendiphtherie bleibt zur Zeit noch aus.

Über den Werdegang der toxischen Nekrotisierung der Deckepithelzellen, sowie über die Wirkungsweise des Toxins auf die Gefäßwände wissen wir von der pathophysiologischen Seite praktisch gar nichts. Im Allgemeinen ist die Pathogenese der lokalen Schädigungen bei Diphtherie noch sehr wenig erforscht. Man kann nur hoffen unter Anwendung unserer modernen Errungenschaften auf den Gebieten der Toxin-, Ferment- und anderer Wirkstofforschung mit der Zeit in diese Frage viel tiefer eindringen zu können.

Bedeutend mehr wissen wir über die Pathogenese der bei der Diphtherieintoxikation vorkommenden allgemeinen Störungen des Stoffwechsels, sowie über die in verschiedenen inneren Organen sich dabei abspielenden pathologischen Vorgänge.

## 1. Toxinverteilung im Körper

Es wurde schon früher betont, daß gerade in der letzten Zeit einige Arbeiten erschienen sind, die auf eine mögliche Nichtidentität des in vitro in Diphtheriekulturen sich bildenden Toxins mit dem in vivo wirksamen Produkten der Diphtheriebakterientätigkeit im infizierten Organismus hinweisen. Da wir aber zur Zeit nichts Näheres über die Natur dieser „sekundären" Gifte wissen, noch überhaupt diese Beobachtungen von anderen Autoren nachgeprüft und bestätigt worden sind, bleiben wir bei der Annahme, daß das in vitro entstehende Toxin praktisch der einzige im erkrankten Organismus tätige Wirkstoff der Diphtheriebakterien ist.

a) **Toxin im Blut.** Der Nachweis des freien Toxins im kreisenden Blut scheiterte längere Zeit an der ungenügenden Empfindlichkeit der früher angewandten Toxinnachweismethoden, die die äußerst geringen Mengen von Toxin im Blut nicht erfassen konnten. Deshalb sind die älteren Angaben von **A. Uffenheimer** (549) und **E. Neumann** (537) über den ihnen im Blut der Diphtheriekranken gelungenen Toxinnachweis mit größter Vorsicht zu beurteilen. Sie bedienten sich der subkutanen bzw. intrakutanen Dosierungsmethoden, deren untere Empfindlichkeitsgrenze für die in Betracht kommenden kleinen Toxinmengen (0,1—0,01 Dlm) pro 1 ccm Serums zu hoch liegt. Erst die Erfindung der intrakornealen Toxindosierung am Kaninchen durch **E. Gildemeister** und **Watanabe** (529) erlaubte ihnen, das Vorhandensein von Diphtherietoxinspuren im Serum der infizierten Meerschweinchen nachzuweisen. Das Serum verursachte auf der Cornea eine spezifische diphtherotoxische Geschwürsbildung nur, wenn es nicht mehr als dreifach mit NaCl verdünnt wurde. Dies bedeutet nach **Gildemeister,** daß in der gesamten Körperflüssigkeit beim Meerschweinchen 24 bis 48 Stunden nach einer an sich tödlichen Diphtherieinfektion mindestens 1/4 Dlm freien Toxins vorhanden sein muß. Bei einem von 36 Diphtheriekranken wurde mit Hilfe dieser Kornealmethode das Vorhandensein des freien Diphtherietoxins im Blute nachgewiesen (**E. Gildemeister** (528)).

1938 konnte **H. Steinmaurer** (547) mit Hilfe einer abgeänderten **Jensenschen** Nachweismethodik im Serum einiger an toxischer Diphtherie erkrankter Kinder das freie Toxin nachweisen. Der Toxingehalt schwankte von 0,04—0,1 Dlm pro 1 ccm. Ein Kind mit 0,2 Dlm pro 1 ccm Serum starb, ein anderes mit nur 0,075 Dlm genas. Die kritische noch verträgliche Toxinkonzentration soll demgemäß bei 0,1 Dlm pro 1 ccm liegen.

b) **Verteilung, Bindung und Ausscheidung des Toxins.** Noch **Pettit** (539) beobachtete an für das Diphtherietoxin weniger empfindlichen Ratten, daß ein Teil des eingespritzten Toxins im Urin auftritt.

**R. Bieling** und **A. Gottschalk** (518) verfolgten mit Hilfe der intrakutanen Dosierungsmethode (Meerschweinchen) nach **Römer** die Verteilung des intrakardial dem Meerschweinchen eingespritzten Diphtherietoxins in verschiedenen Organen. Das Tier wurde nach dem Töten entblutet; trotzdem muß man mit gewissen Mengen des zurückgebliebenen toxinhaltigen Blutes, besonders in den blutreichen Organen (Leber, Milz) rechnen.

Schon 20 Minuten nach der Injektion von 0,25 ccm Diphtherietoxin verschwindet sein größter Teil aus dem Blut. Trotzdem befindet sich zu dieser Zeit im Blut noch bedeutend mehr Gift als in den inneren Organen. Das **Gehirn** ist fast toxinfrei. Die wässerigen Extrakte aus diesem Organ ergeben Hautreaktionen, die denen 1 : 10.000 verdünntem Toxin entsprechen. Leber- und Nebennierenextrakte erzeugten Hautreaktionen entsprechend einer 1 : 4.000 Toxinverdünnung, die Extrakte aus Milz- und Nieren-Reaktionen wie 1 : 1.000 verdünntes Toxin. Das Serum erzeugte eine der 1 : 100 Toxinverdünnung äquivalente Reaktion.

Nach $4^1/_2$ Stunden ist die durch Serum erzeugte Reaktion ca. 40 mal schwächer und entspricht einer Toxinverdünnung von 1 : 4.000. Von den Organen verlieren Milz und Nebennieren relativ mehr an Toxin als Leber und Niere. Die Nieren enthalten noch relativ viel Toxin, was wahrscheinlich mit seiner jetzt auftretenden Ausscheidung im Harn im Zusammenhang stehen muß. Zu diesem Zeitpunkt enthalten Herz- und Skelettmuskel etwas weniger freies Gift als die Leber, die Haut noch weniger als die Muskulatur. Das Gehirn ist wiederum völlig giftfrei.

Dieses in der Kochsalzlösung bei der Extraktion auftretende Toxin müßte in den betreffenden Organen nur locker, wahrscheinlich adsorptiv gebunden sein. Außerdem binden die verschiedenen Gewebe noch gewisse Toxinmengen viel fester, irreversibel.

In einer späteren Versuchsreihe stellten **Bieling** und **Gottschalk** (519) eine Bilanz der Toxinbewegung in vergifteten Tierkörpern auf. Nach ihrer Berechnung sind fünf Stunden nach der Injektion von 1 ccm Toxin — im Serum maximal noch 0,16 ccm enthalten, in der gesamten bis zu jener Zeit ausgeschiedenen Harnmenge (3,6 ccm) — maximal 0,144 ccm, in Kot und Galle — praktisch nichts, in Organen — maximal 0,285 ccm. Die nicht wiedergefundene Menge von ca. 0,4 ccm Toxin (40 % der eingespritzten Dose) ist als im Tiergewebe irreversibel gebunden oder zerstört zu betrachten. Natürlich sind solche Berechnungen sehr weit von Genauigkeit entfernt. Es sind aber hierbei überall die höchstmöglichen Werte für den Toxingehalt verschiedener Organe und Exkrete angesetzt. Von den möglichen Fehlerquellen, die bei dieser Bilanzaufstellung berücksichtigt werden müssen, scheidet die eventuelle Zerstörung des Toxins im Harn beim Stehen deshalb aus, weil die Stehzeit zu kurz ist, um das nachgewiesenermaßen weniger empfindliche starke Toxin im Urin merklich abzuschwächen. Die Bestimmung der etwa in den Blutzellen gebundenen Toxinanteile ist mit intrakutaner Methode wegen der zu starken unspezifischen Reaktionen unmöglich; diese Mengen sollten aber nach **Bieling** und **Gottschalk** das erhaltene Ergebnis nicht sehr stark abändern. Nach **L. J. Stefanenko** (546) adsorbieren die Menschen-, Kaninchen- und Hundeerythrozyten nur sehr wenig Toxin.

Das Toxin, das in der ersten Zeit nach der Einspritzung in den Organen aufgestapelt ist, verschwindet schon in fünf Stunden zum größeren Teil. Gleichzeitig setzt auch die Toxinauscheidung im Urin ein; sie ist aber nicht groß genug, um für die gesamte aus den Organen verschwundene Toxinmenge eine Erklärung zu geben. Es muß sich also um eine Zerstörung des Toxins in den Organen selbst handeln.

Die bei diesen Versuchen besonders stark ausgeprägte Toxinarmut des Gehirns erklären die Autoren mit einer Undurchlässigkeit der Blut-Liquor-Schranke für das Diphtherietoxin.

**F. Vacirca** (550) injizierte den Ratten subcutan das Diphtherietoxin. Noch nach 24 Stunden konnte er es auf der Injektionsstelle nachweisen. Ein Teil des Toxins erschien zu dieser Zeit im Harn; zum Teil wurde es im kreisenden Blut gefunden. Nach 24 Stunden war in Milz, Leber, Nieren und Nebennieren keine nachweisbare Toxinmenge vorhanden. Die Extirpation der Schilddrüse wirkte auf die Toxinausscheidung im Harn vermindernd.

**U. Friedemann** und **A. Elkeles** (527) beobachteten beim Kaninchen, daß, $2^1/_2$ Dlm Toxin, intravenös eingespritzt, aus dem Blut im Laufe von zehn Minuten vollkommen verschwinden.

Der Einwand, daß bei allen Toxinbestimmungen in verschiedenen Organen und Geweben das eventuell noch nicht völlig entfernte Blut die erhaltenen Resultate stören kann, verleiht den Versuchen über die Toxinbindung im Blut eine besonders große Bedeutung. **Coca**, **Russel** und **Baughman** (522) untersuchten den Toxingehalt im Gesamtblut bei intraperitoneal mit Diphtherietoxin vergifteten Meerschweinchen und Ratten und fanden, daß das Meerschweinchenblut 3,5—5mal weniger aktives Toxin enthielt als das Rattenblut. Das wurde durch kleinere Toxinbindungskraft des Blutes der weniger empfindlichen Ratten erklärt. **M. Glusmann** (530), sowie **B. Sbarsky** (542,

543) glauben auf Grund ihrer Untersuchungen schließen zu dürfen, daß die Empfindlichkeit gegenüber dem Diphtherietoxin einzelner Tierarten mit der Fähigkeit ihrer Erythrozyten, das Toxin zu adsorbieren, im Zusammenhang stehen muß. Es gibt aber dabei keinen Unterschied zwischen den Erythrozyten von unbehandelten und von den aktiv immunisierten Meerschweinchen. Dies wurde auch von **Dujarric de la Rivière** und **Kossovitch** (524) bestätigt, die außerdem fanden, daß die Erythrozytenstromata das Toxin im Gegensatz zu intakten Erythrozyten praktisch nicht binden.

Erst **N. Griasnow** (532), dann aber besonders **H. Schmidt** (544, 545), haben diese Frage endgültig im negativen Sinne entschieden und damit die Vermutung von **Bieling** und **Gottschalk** über die Nichtbindung des Toxins an Erythrozyten bestätigt. Die vom Serum möglichst befreiten Erythrozyten binden kein Diphtherietoxin; die bei den ungenügend gewaschenen Erythrozyten beobachtete Toxinbindung ist auf die ihnen beigemengten Serumreste zurückzuführen. Im Serum ist aber nur die Globulinfraktion, nicht aber die der Serumalbumine bindungsfähig. Dies gilt auch für die praktisch antitoxinfreien Seren, so daß es sich hier nicht um eine spezifische Toxin-Antitoxinbindung handeln kann.

Die **Menschenleukozyten** binden nach sechsstündigem Stehen etwas von Diphtherietoxin, wobei es gleichzeitig zu ihrer Auflösung kommt (**P. Ritossa** u. **L. Hirsch** (541)).

Die Pferdeleukozyten aus dem Zitratblut entgiften in vier Stunden bei 37 ° das Diphtherietoxin und sterben dabei zu ca. 15 % ab (geschätzt nach ihrer Vitalfärbbarkeit mit Methylenblau). Die durch Hitze abgetöteten Leukozyten sind unwirksam (Vernichtung von Leukozytenfermenten). Auf das Tetanustoxin wirken die nativen Leukozyten ebenfalls entgiftend ein (**Kobzarenko** (531)). Dagegen konnten **Wadsworth** und **Vories** (398) keine nennenswerte neutralisierende Fähigkeit der Hunds- und Meerschweinchenleukozyten den Diphtherie- und Tetanustoxinen gegenüber feststellen. Ebenfalls erwiesen sich die Lymphozyten aus Mesenterialdrüsen von Kaninchen den Toxinen gegenüber als unwirksam (**Moor und Newport** (535)).

Was die Phagozytose der Diphtheriebakterien durch Leukozyten anbetrifft, so fand **Bachmann** (516), daß die Diphtheriebakterien schlechter als Pseudodiphtheriebakterien phagozytiert werden; diese Regel ist aber keine allgemeingültige.

Das Blutserum der diphtherieinfizierten Meerschweinchen besitzt eine Fähigkeit, die die Phagozytose der Diphtheriebakterien durch Leukozyten aus normalem Blut zu lähmen (**Cantor** (520)). Diese Wirkung wird dem im Blut vorhandenen Diphtherietoxin, evtl. den noch unbekannten aggressinartigen Stoffen darin zugeschrieben.

Nach der Ansicht von **Gogin** (533) ist es nicht das Diphtherietoxin, das die Phagozytose hemmt, sondern die unspezifischen Toxinbouillon-Bestandteile. Das sei daraus ersichtlich, daß auch die erhitzte Toxinbouillon die Phagozytose hemmen kann und daß diese Wirkung nicht durch das Antitoxin beeinflußt werden kann.

Im Serum von nicht mit Diphtherieserum behandelten Diphtheriekranken wurde eine leukolytische Fähigkeit festgestellt, die von dem im Blute kreisenden Diphtherietoxin verursacht und durch das Diphtherie-Antitoxin hemmbar ist (**Lubrano** und **Pavani** (536)).

Interessant ist auch die Beobachtung von **Wadsworth** und **Hoppe** (510), wonach die Bouillonkulturfiltrate von Diphtheriebakterien (und 12 anderer Keime) die Phagozytose von Staphylokokken durch Hundsleukozyten hemmen können. Die Wirkung ist aber von dem Toxingehalt solcher Filtrate unabhängig und durch das Diphtherieantitoxin unbeeinflußbar. Die Wirkung der Filtrate ist durch das Waschen der Leukozyten mit Kochsalzlösung rückgängig zu machen. Sie ist t°- und lichtunempfindlich, wird aber durch Pepsin und Trypsin abgeschwächt. In älteren Kulturen ist sie stärker als in jüngeren, kommt auch in den Berkefeld-Kulturfiltraten vor und ist von der Bouillonzusammensetzung unabhängig.

Die **Endothelzellen der Blutgefäße**, sowie überhaupt die RES-Zellen binden praktisch kein Diphtherietoxin, wie es aus den Versuchen von **H. Schmidt** mit der Cu-Blockade des RES-Systems bei den intravenös vergifteten Meerschweinchen hervorgeht.

Mit den **in vitro** angestellten Versuchen konnten **H. Schmidt** und **P. Stockhusen** (545) das Toxinbindungsvermögen verschiedenartiger Gewebesuspensionen von Meerschweinchen verfolgen. Dabei erwiesen sich das **Hirngewebe** und die **Leber** an erster Stelle als besonders stark toxinbindend. Nieren, Nebennieren, Lunge, Myokard, Skelettmuskeln, Milz, Lymphdrüsen haben viel weniger Toxin gebunden. **Ritossa** (540) hat die Diphtherietoxin-Bindung durch das verschiedene Gewebe in vitro studiert und dabei die folgende Reihenfolge ihrer Bindungsfähigkeit aufgestellt: Leber, Nieren, Nebennieren, Herz, Lunge, Milz und Gehirn. **H. Kleinschmidt** fand noch 1912, daß die frischen Gehirnzellen von Meerschweinchen in vitro das Toxin binden können. Auf den darin enthaltenen Gegensatz zu der von **Bieling** und **Gottschalk** beobachteten Toxinarmut des Gehirns der diphtherievergifteten Tiere, sowie auf die allgemeine Bedeutung dieser Fragen für das Verständnis der Gehirnschädigung bei Diphtherie, kommen wir in dem Kapitel über das Gehirn noch zurück.

Jetzt wollen wir aber den aus der Affinität des Diphtherietoxins zu dem Gehirngewebe gezogenen Schluß über die Anreicherung des Toxins in den lipoidhaltigen Geweben etwas eingehender behandeln. **W. Noster** (538) spritzte den Meerschweinchen ein Gemisch aus 3%iger Lösung von Cholesterin in Olivenöl und Diphtherietoxin ein und sah, daß besonders, wenn das Gemisch 3—6 Stunden vor der Einspritzung im Brutschrank gestanden hat, einige Tiere die Vergiftung überstehen können. Auch nach einer prophylaktischen Vorbehandlung der Tiere mit Cholesterin sah er, daß von 18 vergifteten Tieren — 16 die Einspritzung überlebten. Diese toxinentgiftende Wirkung des Cholesterins (und Lanolins) haben auch **Eisler** und **Gottdenker** (525, 526), **Leupold** und **Bogendörfer** (534), **Beumer** (517), **Suranyi** und **Jarno** (548) u. a. gesehen, die an toxinumhüllende und dadurch seine Resorption verzögernde Wirkung der Lipoide denken. Außerdem soll nach **Noster** die nach der Lipoiddarreichung auftretende Lipoidanreicherung in inneren Organen eine schützende Rolle spielen.

Im Gegensatz dazu fand **Filia** (zit. nach **Clauberg** und **Hückel** (521)) keine Wirkung des Cholesterins bei den diphtherievergifteten Tieren. Das Lezithin beschleunigt ihren Tod. **H. Jurgens** erzielte mit Cholesterin- bzw. Lezithinfütterung das Auftreten von einer Fettinfiltration des Myokards und eine Verkürzung der Überlebensdauer nach Diphtherieintoxikation bei Meerschweinchen. **Degkwitz** (523) zog daraus den Schluß, daß die Lipoidvermehrung in Organen den Organismus zu dem malignen Diphtherieverlauf geradezu disponiert.

Angesichts dieser Kontroverse über die Bedeutung der Lipoide bei der Diphtherieerkrankung haben **K. W. Clauberg** und **R. Hückel** (521) die Meerschweinchen mit Cholesterin bzw. Lezithin gefüttert und dadurch den Lipoidgehalt ihrer Organe gesteigert. Trotzdem sahen sie keinen Unterschied hinsichtlich der Überlebensdauer und pathologischer Veränderungen nach einer Diphtherieintoxikation zwischen den mit Lipoiden gefütterten und Kontrolltieren. Ob es tatsächlich Lipoide sind, die in den Geweben die Toxinbindung gewährleisten, ist zur Zeit nach diesen Autoren noch nicht zu entscheiden. Die Versuche in vitro müssen nicht unbedingt den Verhältnissen in vivo entsprechen. Jedenfalls muß als feststehend angesehen werden, daß gewisse Gewebe das Diphtherietoxin aus dem Blut an sich reißen und erst locker, mit der Zeit aber immer fester binden können.

Ob das Toxin dabei nur an der Oberfläche der Zellen bleibt oder auch in das Zellinnere eindringt ist bis jetzt noch nicht eindeutig festgestellt. Seine schädigende Wirkung könnte das Toxin auch von der Zelloberfläche ausüben.

Mit welchen Zellbestandteilen es dabei zuerst zur Reaktion kommt, welcher Art die dadurch im betreffenden Zellsubstrat und an dem Toxin selbst auftretenden Veränderungen sind; alle diese höchst wichtigen Fragen sind bisher auch ungelöst geblieben.

## 2. Wirkung auf die Gewebskulturen in vitro

Nach den ersten diesbezüglichen Arbeiten von **Levaditi** und **Muttermilch** (554, 555, 556), sowie von **Suzuki** (zit. nach **Krontowski** (552)) wirkt das Diphtherietoxin hemmend auf das Wachstum der Kulturen von Fibroblasten in vitro. Die Auswanderung von Monozyten und Polynuklearen aus dem Explantat bleibt dabei unberührt, die Herzmuskelzellen behalten ihre Kontraktilität bei. Die Wirkung des Diphtherietoxins auf Fibroblasten ist durch das spezifische Antitoxin neutralisierbar. Nach **Mendeléèf** (557) werden die Milz- sowie Bauchfellexplantate von normalem Meerschweinchen, in normalem Plasma gezüchtet, durch das Diphtherietoxin getötet; im antitoxinhaltigen Plasma entwickeln sich die toxinvergifteten Explantate weiter. Die Milz von den aktiv oder passiv immunisierten Meerschweinchen, gezüchtet in einem normalen Plasma, wird aber vom Diphtherietoxin abgetötet und autolysiert; es findet demnach keine Antitoxinbildung durch das Milzgewebe in vitro statt. Auch die Lungen-, Nieren- und Herzexplantate von aktiv immunisierten Meerschweinchen bilden keine Antitoxine in vitro. Es muß aber erwähnt werden, daß auch im Plasma dieser Tiere kein Antitoxin, auch noch nicht nach der vierten subkutanten Toxininjektion, gefunden werden kann.

**A. A. Krontowski** (552) setzte zu den Deckglaskulturen der Fibroblasten von Hühnerembryonen $1:10^5$ bis $1:10^6$ verdünntes Diphtherietoxin hinzu und beobachtete danach eine Verminderung des Wachstums um 48 bzw. 37 % gegenüber dem toxinfreien Milieu. Die Wachstumshemmung trat erst nach einer Latenzzeit von ca. 24 Stunden ein. Derselbe Effekt wurde auch bei Versuchen mit Dauerkulturen in **Carrel**-Flaschen erzielt, und zwar immer nach einer Latenzzeit. Der Versuch gelang, gleichgültig, ob man das Toxin von vornherein dem Nährboden zusetzte oder aber erst nach einer gewissen Zeit der normalen Entwicklung.

Während die vergifteten Kulturen auch nach der Toxinentfernung dieselbe Wachstumshemmung aufweisen, zeigen die aus ihnen gewonnenen weiteren Subkulturen (öfter die zweiten, manchmal schon die ersten) eine Erholung. Allmählich holen sie das Wachstum der Kontrollkulturen nach. Es wird dabei von einer Reversibilität der Wachstumshemmung gesprochen. Die Erholung trat auch nach längerer Einwirkung von stärkeren Toxinkonzentrationen (0,1—0,5 %) auf.

Das Diphtherietoxin hemmt auch nach einer Latenzzeit von 24 Stunden den Zuckerverbrauch und die Milchsäurebildung der Fibroblastenkulturen, sowie des nicht wachsenden Explantats aus dem Gehirn ausgewachsener Tiere (**Krontowski** u. **Jazimirska-Krontowska** (553)).

| | Kontrollen | Mit 0,15 % Toxins |
|---|---|---|
| Zuckerverbrauch in mg % | 73,0 | 49,5 |
| Milchsäurebildung in mg % | 23,1 | 10,8 |

Merkwürdigerweise üben die Streptokokken- und Ruhr-Shiga-Toxine keine solche Wirkung auf das Wachstum und den Kohlehydratstoffwechsel der Gewebe in vitro aus.

**A. Wadsworth** und **E. Hoppe** (561) beobachteten, daß das Diphtherietoxin in vitro erst in höheren Konzentrationen die Gewebskulturen in vitro schädigen kann. Es wird in vitro nur durch das wachsende embryonale Herzgewebe des Meerschweinchens, nicht aber durch das Herzgewebe von erwachsenen oder fötalen Tieren entgiftet, irreversibel gebunden oder zerstört.

Die Atmungsgröße des überlebenden Lebergewebes von Ratten wird durch das Diphtherietoxin nicht verändert (**Walthard** (562)).

Beim neuntägigen Hühnerembryo bewirkt das Diphtherietoxin die Entstehung von Nekrosen in Haut, Nieren, Leber und Chorio-Allantois. Es führt schließlich zum

Absterben des Embryos (**F. L. Evans** (551)). Die Hühnerembryonen erwiesen sich dabei dem Diphtherietoxin gegenüber viel empfindlicher als die Meerschweinchenembryonen. Die Kulturen von **Paramaecien** (im Weizenwasser) wurden durch acht von neun geprüften Diphtherietoxinen in 3—5 Stunden getötet. Das Toxin des Stammes Park-Williams No. 8 wurde hierbei durch das Antitoxin noch bis zur Verdünnung von 1 : 18.000 vollkommen neutralisiert in dieser seiner Fähigkeit (**Tunnicliff** (558)). Dagegen erwiesen sich in Versuchen von **Oehler** (559) die Infusorien **Colpoda Steini, Colpoda cucullus** und **Colpidium colpoda** als dem Diphtherietoxin gegenüber unempfindlich.

Auf die **Bakterien** wirkt das Diphtherietoxin bei Konzentrationen von 30 Dlm pro 1 ccm deutlich wachstumshemmend; die Wirkung ist durch das Antitoxin neutralisierbar. Es wurden folgende Bakterien in dieser Hinsicht geprüft: B. proteus vulgaris, Staphylococcus albus und B. cereus (**Sherman** und **Stark, C. N. & P. W.** (560)).

### 3. Wirkung auf die Gefäßwände — seröse Entzündung

Den größten Fortschritt in der Erforschung der Pathogenese der allgemeinen Toxinschädigungen bei der Diphtherie, besonders bei ihren malignen, sog. „hypertoxischen" Formen, stellt u. E. die Übertragung des von **H. Eppinger** (570) geschaffenen Begriffs der **„serösen Entzündung"** auf dieses Gebiet dar. Das an und für sich nicht richtige Wort, das sich trotzdem in der Literatur schon eingebürgert hat, bezeichnet einen pathologischen Zustand, bei dem die Wände der kleineren und kleinsten Blutgefäße nicht nur für das Wasser und Elektrolyte, sondern auch für die Plasmaproteine durchlässig werden.

Als Folge dieser Permeabilitätserhöhung der Gefäßwände kommt es zu einer Überschwemmung des umliegenden Gewebes, in erster Linie des Bindegewebes, mit einer proteinreichen Flüssigkeit. Die Ansammlung der Eiweißstoffe des Blutplasmas im Gewebe führt zu einer durch erschwerte Gasdiffusion verursachten Störung der Sauerstoffversorgung des Parenchyms. Die Organzellen gehen in einen gezwungenen anoxybiotischen Zustand über. Der Kohlehydratstoffwechsel erleidet eine Entgleisung, die zu einer Anhäufung von sauren Produkten im Gewebe führt. Infolgedessen kommt es zu einer Störung in der Elektrolytverteilung zwischen dem Plasma und der Gewebsflüssigkeit, — K wandert in die Blutbahn, Na und Cl dagegen ins Gewebe. Diese Störungen werden von pathologischen Veränderungen des N-Stoffwechsels begleitet, die zu einer Erhöhung des Rest-N im Blut und Gewebe führen.

Die Abwanderung von Plasma in das Gewebe hat die Verminderung der zirkulierenden Blutmenge und eine Bluteindickung (Vermehrung der Erythrozytenzahl, des Hämoglobins und die Vergrößerung des Hämatokriwerts) zur Folge.

Alle diese Störungen wurden zuerst von der Schule **H. Eppingers** an verschiedenen klinischen und experimentellen Kollapsformen verfolgt. Es entstand die Einteilung der Kollapsursachen in zwei große Gruppen: **hämodynamische und protoplasmatische** Bei den ersteren liegt der Schwerpunkt im Versagen der Herzaktion bzw. in einer abnormen Erweiterung der Blutgefäße in größeren Kreislaufregionen (besonders im Bereich der Organe der Bauchhöhle). Die protoplasmatische Kollapskomponente beruht auf der eben besprochenen Erhöhung der Kapillarendurchlässigkeit. In reinster Form tritt der „protoplasmatische" Kollaps bei der experimentellen Vergiftung der Tiere mit **Allylamin** bzw. **Allylformiat** auf. Der Histaminkollaps tritt meistens unter Beteiligung auch der hämodynamischen Komponente ein.

**Zink** (588) sah, daß bei den toxischen Diphtherieerkrankungen, ähnlich wie bei Verbrennungen und bei der experimentellen Histaminvergiftung die Wandungen der Blutkapillaren eine ödematise Schwellung aufweisen. Auch **D. Tichomirow** (586) konnte an sechs mit Diphtheriebakterien infizierten Meerschweinchen feststellen, daß bei ihnen außer den allgemeinen toxischen Veränderungen in Parenchymorganen besonders ausgesprochene Schädigungen an Kapillarendothelien und Endothelien der größeren Blutgefäße bemerkbar waren. Die Schädigung ging manchmal bis zur totalen Endothelzerstörung und konnte zur Erklärung des gleichzeitig beobachteten Vorhandenseins der Diphtheriebakterien im Blut, sowie der starken inneren Blutungen herangezogen werden.

**G. W. Günther** (574) untersuchte die Kollapserscheinungen beim diphtherievergifteten Kaninchen. Er unterscheidet zwischen dem **akuten** Kollaps, der sich schnell nach der Vergiftung entwickelt und einem später auftretenden **potrahierten** Kollaps. Der akute Kollaps verläuft unter dem Bilde einer akuten Enteritis; bei der Autopsie fällt meistens die Hyperämie der Gedärme als Folge einer Kreislaufstörung in einem großen Gebiet des Magendarmkanals auf, während die anderen inneren Organe (Leber, Milz, Herz, Nieren, Nebennieren) anämisch sind.

Bei später eingehenden Tieren spielt sich der krankhafte Prozeß in mehreren, aber kleineren Gefäßbezirken ab. Als Folge dieser Zirkulationsstörungen kommt es in verschiedenen Organen zu Schwellung und Nekrose der Parenchymzellen, zu serohömorrhagischer Entzündung und starker Infarktbildung.

Eine Reihe von Arbeiten, besonders von **J. Dieckhoff** und **J. Ströder** hat die überwiegende Rolle der Gefäßwandschädigungen bei toxischer Diphtherie außer Zweifel gestellt.

**J. Dieckhoff** (566) beobachtete bei den diphtherievergifteten Kaninchen eine starke Verminderung der zirkulierenden Blutmenge. **Dieckhoff** führt sie auf Störungen im peripheren Kreislauf zurück.

Auf der Höhe der Diphtherieerkrankung beim Kind (567) ist die zirkulierende Blutmenge stark vermindert; die Erythrozytenzahl ist vergrößert, das Blutplasmaeiweiß bleibt unverändert. Der Eiweißgehalt in der Flüssigkeit der Cantharidenblasen ist dabei vergrößert. Im **Landysschen** Stauungsversuch erkannte man, daß eine verstärkte Durchlässigkeit der Gefäßwände für die Plasmaproteine vorliegt. Ähnliche Erscheinungen kommen auch bei Scharlach- bzw. Ruhrintoxikationen vor.

Wenn die zirkulierende Blutmenge infolge der Steigerung der Kapillarenpermeabilität um 30—40 % vermindert ist, tritt beim Menschen und beim Tier die für die „seröse Entzündung“ charakteristische Elektrolytenverschiebung (Transmineralisierung) auf (569). Na und Cl sind im Blutserum und Harn vermindert, im Gewebe, besonders in der Leber, angereichert. K verhält sich umgekehrt. Rest-N im Blut ist besonders auf Kosten des Harnstoff-N vermehrt.

Die Versorgung der Gewebe mit Sauerstoff ist gestört. Die Differenz zwischen dem $O_2$-Gehalt im arteriellen und venösen Blut wird kleiner; es wird weniger $O_2$ in der Lunge aufgenommen, gleichzeitig aber auch weniger an das Gewebe abgegeben.

Diese Stoffwechselstörungen sind nach **Dieckhoff** nicht ausschließlich „nebennierenbedingt“, weil sie durch Nebennierenrindenpräparate nicht gebessert werden können. Nur die Blutgasveränderungen lassen sich durch die frühzeitige Percortentherapie beeinflussen. Außerdem werden bei den „nebennierenbedingten“ Elektrolytverschiebungen Na und Cl im Harn stärker ausgeschieden, während sie bei diphtherotoxischen Veränderungen auch im Harne weniger erscheinen, also in den Geweben retiniert werden müssen (568).

**Nitschke** und **Krätschell** beschreiben eine Reihe von Blutveränderungen bei den an toxischer Diphtherie erkrankten Kindern, die sie im Wesentlichen auf eine Nebennierenrindeninsuffizienz zurückführen (577). Diese Veränderungen sind denen bei der erhöhten Kapillarenpermeabilität sehr ähnlich. Im einzelnen handelt es sich um: a) nicht regelmäßige, aber in den ersten Erkrankungstagen besonders häufige Erythrozyten- bzw. Hämoglobinzunahme; b) manchmal gesteigerten Färbeindex (Zeichen der Wasserverarmung der Erythrozyten); c) eine Bluteiweißzunahme mit einer Verschiebung des Serumproteinspektrums zugunsten des Albumins bei fast 25 % der Erkrankten; d) Steigerung des Blut-Rest-N; e) Zunahme der Blutalkalireserve (evtl. im Zusammenhang mit der Chloridabnahme); f) Blutkaliumzunahme.

Dem letzten Symptom wird von **Nitschke** und **Krätschell** ein besonders großer Wert beigemessen, da es nur bei der Nebennierenrindeninsuffizienz zu einem so großen K-Zuwachs im Blute, wie bei der toxischen Diphtherie kommt. Es wurde von **Nitschke** (578) ein besonders nach seinem eigenen Verfahren hergestelltes Nebennierenrindenpräparat vorgeschlagen, das im Tierexperiment eine deutliche Abnahme des Blutkaliums verursachte.

Die Veränderungen im Elektrolytengehalt des Blutes bei diphtherievergifteten Meerschweinchen beschreiben auch **F. Addari** und **F. Gottdenker** (563). Sie fanden, daß schon 24—36 Stunden nach der subkutanen Einspritzung von 1 Dlm des Toxins, noch früher als an der Injektionsstelle sich ein Infiltrat bildet, der Blutchlorgehalt auf 15—25 % seines Anfangswerts absinkt. Dieses Minimum bleibt bis zum Tode des Tieres konstant. Dieser Chlorabnahme wird eine suprarenale Genese in Analogie mit Blutchlorschwankungen bei den Addisonkranken und nebennierenlosen Tieren zugeschrieben.

**Starlinger** und **Winands** (580) berichten über eine absolute und relative Vermehrung des Gesamtserumeiweißes bei Menschendiphtherie, besonders des Fibrinogens und Serumglobulins. Nach **H. Gohr** und **W. Bolt** (571) liegen die Werte für das Gesamtserumeiweiß bei Diphtherie innerhalb der Norm. Der Gehalt an Albumin- bzw. Globulin ist uneinheitlich; ihr Verhältnis steht in keiner Beziehung zu der gewöhnlich bei der Diphtherie auftretenden Erhöhung der Erythrozyten-Senkungsgeschwindigkeit und der Verkürzung des **Weltmannschen Koagulationbandes.**

Nach den Ergebnissen von **G. Bonnet** und **M. Casassa** (564) sind die Blutserumglobuline bei den Diphtheriekranken ständig vermehrt. Die Gesamtserumproteine, sowie das Albumin zeigen keine eindeutigen Veränderungen auf. Die Globulinvermehrung (relative und absolute) dauert bis in die Rekonvaleszenz an. Wahrscheinlich hängt dieses Phänomen nicht so sehr mit der Gefäßpermeabilität als mit der spezifischen Abwehrtätigkeit des infizierten Organismus zusammen. Die Diphtherie-Toxine und Anatoxine verhindern die Gerinnung des Blutserums und des Serumglobulins bei ihrer Erhitzung, nicht aber die des Serumalbumins. Die gerinnungsverhindernde Substanz ist mit dem Diphtherietoxin verbunden, scheint aber mit ihm nicht identisch zu sein. Die Hitzedenaturierung von Proteinen wird dabei nicht verhindert; nur ihre Ausflockung ist aufgehoben **(Goldie** (572)**).** Auch die Koagulation der Blutplasma wird in Anwesenheit von Anatoxin, erhitzte Diphtherietoxins, sowie der einfachen Kulturbouillon verzögert oder aufgehoben. Die Wirkung beruht auf der Inhibition der Thrombinbildung im koagulierenden Blut **(Goldie** (573)**).**

**J. Ströder** formuliert seine Auffassung über die Pathogenese der Kreislaufsstörungen bei toxischer Diphtherie folgendermaßen:

„In den ersten Diphtherietagen kommen die Kinder vorwiegend an einem Versagen des peripheren Kreislaufs zu Tode. Vasomotorenzentrum, sowie die sympathischen Nervenausbreitungen in der Gefäßwand sind der Angriffspunkt des Diphtherietoxins. Der Gefäßtonus läßt nach. Die Eingeweidegefäße sind überfüllt, die peripheren laufen leer. Der Rückstrom des Venenblutes zum Herzen ist mangelhaft. Das ist der

„hämodynamische“ Kollaps. Aber außerdem kommt es im Bereiche der terminalen Gefäße zu einer Erhöhung der Permeabilität der Gefäßwände, gefolgt von einem Plasmaeiweißaustritt in das Gewebe.“

Die Rolle dieser zweiten „protoplasmatischen“ Komponente bei der Diphtherieintoxikation belegt **Ströder** (581—583) durch folgende Experimente:

1. Das intravenös gegebene artfremde Serum verschwindet bei einer Diphtherieintoxikation schneller aus der Blutbahn als sonst (585).

2. Die Übertrittsgeschwindigkeit des artfremden Serums aus dem Blut in den Liquor ist gesteigert. Auch der Übertritt in umgekehrter Richtung Liquor-Blut ist beschleunigt (584).

3. Cantharidenblasenflüssigkeit enthält mehr Eiweiß als sonst.

4. Die **disseschen** Räume in der Leber sind mit Eiweiß überfüllt. Die zentralen Leberläppchenteile sind stark hyperämisch — **„Hepatitis serosa“** von **H. Eppinger.**

5. An den isolierten und mit Nornosallösung durchströmten Kaninchenohren ist 48 Stunden nach der Diphtherievergiftung des Tieres eine erhöhte Kapillarendurchlässigkeit für Wasser und Salze, ohne gleichzeitige Gefäßerweiterung festgestellt worden (583).

6. Die Permeabilität der mit dem Diphtherietoxin vergifteten Erythrozyten für das Glyzerin und Erythrit ist verstärkt. Für Glukose bleibt sie unverändert. Ebenfalls bemerkt man keine Differenz in der Permeabilitätsgeschwindigkeit der toxinvergifteten und der normalen Erythrozyten für lipophyle Farbstoffe und einige Anionen.

Aus diesen letzten Beobachtungen wird der Schluß gezogen, daß wenigstens bei den Erythrozyten die gefundenen Permeabilitätsstörungen weder mit einer Veränderung der Einweiß- noch der Lipoidkomponente ihrer Membranen im Zusammenhang stehen können. Es wird eine Störung der **„physiologischen Membranpermeation“** im Sinne **R. Höbers** angenommen. Diese Störungen sollen durch Veränderungen im kolloidalen Zustande des Zytoplasmas und seiner Oberflächenschicht bedingt sein.

Nach allen diesen Befunden und Erwägungen sieht **Ströder** die Möglichkeit, gewisse Parallelen zwischen der Diphtherieintoxikation und anaphylaktischen Erscheinungen, sowie der „serösen Entzündung“ zu ziehen.

Eine andere Ausdrucksform der Gefäßwandschädigung bei Diphtherie liegt bei den in verschiedenen Organen vorkommenden Hämorrhagien vor. Über die Klinik dieses Symptoms hat in der letzten Zeit besonders ausführlich **P. v. Kiss** (576) berichtet. **Cassoute u. a.** (565) haben fast immer bei den diphtheriekranken Kindern eine verlängerte Blutungszeit gesehen.

Besonders häufig sind die von **J. Sampedro** (579) beim Meerschweinchen und von **T. Yokoyama** (587) beim Kaninchen, von **Hanke** (575) bei Katzen und Menschen festgestellten, bei der Diphtherieintoxikation auftretenden Blutungen und Geschwüre an der Schleimhaut des Pylorus zu erwähnen. Damit waren die älteren Befunde von **Rosenen** und **Andersen, sowie von Neisser** und **Gins** (1913) beim Menschen bestätigt. **Sampedro** konnte bei zwei mit je 0,4 ccm einer 1%igen Diphtherietoxinlösung vergifteten Meerschweinchen außer starker Hyperämie und Blutungen in Nebennieren, Nieren und Leber auch eine hämorrhagische Pyloritis beobachten, die durch die Abschuppung der oberen Epithelschichten, Schwund des Zottenskeletts und eine Anreicherung von eosinophylen Zellen charakterisiert war. Er wies bei dieser Gelegenheit auf große Ähnlichkeit dieser diphtherietoxischen Pylorusschädigungen mit beginnendem Magenulcus hin.

Endlich deutet auch die bei der Diphtherieintoxikation von Meerschweinchen besonders oft vorkommende Flüssigkeitsansammlung in den serösen Körperhöhlen auf eine stärkere Schädigung der Gefäßwände hin.

### 4. Wirkung auf die Nebennieren. Beteiligung der Ascorbinsäure, Adrenalins, Glutathions usw.

Eine ebenso wichtige Rolle wie den Gefäßwandschädigungen kommt bei der Diphtherieintoxikation des Menschen und einiger Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen) den Veränderungen in den Nebennieren zu. Bevor man über die große Bedeutung der Gefäßpermeabilität bei dem Zustandekommen von einigen bakteriellen Intoxikationen genauer unterrichtet wurde, hat man die Mehrzahl der bei ihnen beobachteten physiologischen und biochemischen Abweichungen durch das Versagen der Nebennieren, insbesondere ihrer Rinde, zu erklären versucht. Die Verhältnisse sind auch jetzt nicht eindeutig aufgeklärt. Man kann annehmen, daß die beiden Schädigungsgruppen eng miteinander verknüpft sind. Die Nebennieren sind durch ihren Reichtum an Adrenalin und Ascorbinsäure gekennzeichnet. Dem ersteren kommt, wie bekannt, unter anderem auch eine wichtige Rolle des physiologischen Regulators des Gefäßlumens zu; Ascorbinsäure ist zum Aufrechterhalten der normalen Beschaffenheit notwendig, was besonders deutlich am Auftreten von Hämorrhagien bei Skorbut zu sehen ist.

Der Mechanismus der physiologischen Lenkung der Kapillarenpermeabilität ist noch unbekannt. Es kann auch sein, daß die beiden Nebennierenkörper (eventuell im Zusammenwirken mit dem Corticosteron) an diesem Regulationsvorgang beteiligt sind, und das Ausfallen oder die Beschädigung der Nebennieren durch Störungen in dem Stoffwechsel gerade dieser beiden Körper die Gefäßpermeabilität beeinflussen kann.

Die Stoffwechselanomalien, die von **Bamberger und Never** (594) bei den diphtheriekranken Kindern beobachtet wurden, sind folgende:

a) **Nebenniereninsuffizienz-Erscheinungen:** negative Chlor- und Natrium-Bilanz, Hypochloraemie, Azotaemie, besonders Uraemie, Erhöhung des Blutphosphat-Titers, Hyperlaktacidaemie, Erhöhung der Erythrozytenzahl, des Haemoglobins; Abnahme der Blutkohlensäure und des Blutcalciums, sowie eine Hypoproteinaemie (im Gegensatz zu der typischen Nebenniereninsuffizienz).

b) **Störungen der Nierenfunktion:** Nierensperre für Harnstoff und Wasser.

c) **Leberschädigung:** Ikterus und das Auftreten des rotgelben Pigments im Serum.

d) **Fehlleitung des Kohlehydratstoffwechsels:** Störung der Veresterungsprozesse beim Glykogenabbau, Schädigung der Myokardfunktion.

e) **Verringerung des Plasmavolumens:** Hypothermie der Haut, Blutdrucksenkung.

Während bei den diphtherieempfindlichen Meerschweinchen, Hunden und Menschen frühzeitig ein Versagen des Kreislaufs und der den Blutdruck aufrechterhaltenden endokrinen Organe (Nebennieren, Hypophyse) eintritt und das klinische und pathologisch-anatomische Bild beherrscht, fehlen alle diese Erscheinungen bei der Diphtherieintoxikation von viel resistenteren weißen Mäusen. Die Mäuse zeigen vor allem Schädigungen des Zentralnervensystems auf, von einer schweren Ataxie gefolgt, die die Tiere zur Nahrungsaufnahme unfähig macht und zum Kachexietod führt (**Ulrich** (679)).

Die Nebennieren erleiden bei der experimentellen Diphtherieintoxikation, sowie bei den toxischen Diphtherieerkrankungen des Menschen tiefgehende Schädigungen. Wie schon die älteren Autoren beschrieben haben (**Roux** und **Yersin, Oppenheim** und **Loeper** (655), **Levy** (638), **Abramow** (589), **Leede** (637), **Strubell** (667) u. a. sind die Nebennieren bei diphtherievergifteten Tieren und bei an Diphtherie verstorbenen Kindern vergrößert, hyperämisch und mit Blutungen durchsetzt. **A. Dietrich** (612) und **M. Wülfing** (687) sahen, daß die ersten histologischen Veränderungen in der Nebennierenrinde in einer Verkleinerung der Lipoidtröpfchen in ihren Zellen bestehen, die bis zum vollen

Lipoidschwund gehen können. Weiter werden die Zellen stark vakuolisiert; es entsteht das Bild einer „**wabigen Degeneration**". Endlich kommt es zum Zellzerfall und zur Zellkernauflösung. Gleichzeitig treten lokale Zirkulationsstörungen (Hyperämie, Ödeme, Blutungen, Infarkte) auf. Diese Befunde wurden bei vielen Infektionen erhoben, sind aber bei Diphtherie und Scharlach am häufigsten. Die pathohistologischen Veränderungen am Nebennierenmark betrachtet **Dietrich** als von recht problematischer Natur.

Auch **H. Lotze** und **S. Thaddea** (645) sowie **Hartmann A. Macdonald** (626) berichten über sehr frühzeitig bei Diphtherieintoxikation eintretende Blutungen, Nekrosen und Lipoidschwund in der Nebennierenrinde. **Maclean** (648) fand an den Nebennieren der an toxischer Diphtherie verstorbenen Kinder eine trübe Schwellung des Parenchyms und zahlreiche Blutungen, was bei den an weniger toxischem Diphtheriekrupp Verstorbenen nicht der Fall ist. **G. Mouriquand u. a.** (650—652) sahen, daß in den Nebennieren der diphtherievergifteten Tiere der **Cholesteringehalt** erniedrigt ist.

Diese Beobachtungen hat auch **J. Dieckhoff** (604) bestätigen können; außerdem sah er, daß diese Nebennierenveränderungen bei den mit dem **Desoxycorticosteronacetat (Percorten)** behandelten Tieren viel weniger ausgeprägt waren.

Histochemisch wurde außer dem obenerwähnten Lipoidschwund in der Nebennierenrinde noch eine verstärkte **Plasmalreaktion** nach **Feulgen** beschrieben (**Tonutti** (673)). Diese Reaktion weist auf die Anwesenheit von Phosphatiden hin, die eine Acetalgruppe besitzen. Diese Reaktion wurde in der Nebennierenrinde auch nach dem Zuführen von corticotropem Hormon der Hypophyse beobachtet. Geringer Ascorbinsäuremangel ebenso wie die Zufuhr von kleinen Mengen dieser Säure rufen keine Veränderungen in der Intensität der Feulgenschen Reaktion in Nebennieren hervor. **Tonutti** glaubt, daß die Verstärkung dieser Reaktion bei der Diphtherieintoxikation auf einer Ausschüttung des corticotropen Hypophysenhormons ins Blut beruht, die von einer Aktivierung der Nebennierentätigkeit gefolgt ist. Auch **W. Cramer** (602, 603) hat auf histochemischem Wege die erhöhte Aktivität der Nebennieren bei der Diphtherieintoxikation nachgewiesen.

Was das **Adrenalin** betrifft, sah noch **R. Ehrmann** (615) nach einer Diphtherieintoxikation beim Kaninchen eine gesteigerte Adrenalinsekretion in das Venenblut (gemessen an der Pupillenreaktion des enukleierten Froschauges auf den Zusatz vom Blut aus V. cava inf, des Versuchstieres). **K. Pesch** und **K. Strelow** (659) beobachteten, daß das Nebennierenmark (auch gekochtes) das Wachstum der Diphtheriebakterien hemmt; Nebennierenrinde verhielt sich indifferent. **G. Mouriquand, P. Sédaillan** und **Coeur** (650) fanden, daß nach einer Diphtherieintoxikation die Nebennieren an Adrenalin und Ascorbinsäure verarmt sind. Die Verringerung ihres Adrenalingehalts beginnt erst nach zehn Stunden nach der Vergiftung und erreicht ihren Höhepunkt von der 16. Stunde ab.

**Mutow** (653) bestätigte diesen Befund. Er sah, daß die Adrenalinabnahme in Nebennieren durch die Durchschneidung von nn. splanchnici verstärkt wird. Im Gegensatz dazu konnte **Ashford** (592) 24—48 Stunden nach einer intraperitonealen Injektion von Diphtherietoxin beim Meerschweinchen keine größere Erniedrigung des Adrenalintiters in ihren Nebennieren gegenüber den Kontrolltieren feststellen.

Die toxischen Di-Kulturen zerstören die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins. Es sind aber daran weder das Di-Toxin noch die pH-Verhältnisse, vielmehr aber die in den Kulturen vorhandenen Bakterien-Nukleproteine beteiligt (**v. Gröer** und **Hecht** (622)).

Der Gehalt der Nebennierenrinde beim Meerschweinchen am **Corticosteron** wurde von **A.** und **P. Giroud** und **M. Martinet** (620) nach der Injektion von einigen letalen Dosen von Diphtherie- oder Tetanustoxinen untersucht und kurz vor dem Tode des Tieres um $^1/_3$ bis $^1/_2$ niedriger als in der Norm gefunden.

In diesem Zusammenhange sind die Befunde von **J. Dieckhoff** (605) von besonderem Interesse, der im Serum von diphtherievergifteten Kaninchen eine dialysierbare Substanz fand, die bei den Meerschweinchen gewisse Veränderungen an den Nebennieren hervorrufen könnte. Nach einer **Cortidyn**-Behandlung verschwindet diese Substanz aus dem Serum. Der Verfasser bringt diese Substanz mit der Schädigung der Kaninchennebennieren durch das Diphtherietoxin in Verbindung. Bei diphtheriekranken Kindern vermochte **Dieckhoff** das Auftreten einer solchen Substanz im Serum nicht nachzuweisen. Spritzt man Meerschweinchen solche Kinderseren ein, so treten bei ihnen in den Nebennieren Blutungen und Nekrosen auf, die auch mit dem Serum der Cortidyn behandelten Kranken erzielt werden können. Dieser Effekt ist wahrscheinlich durch das bei 17 von 38 solcher Kinder im Serum nachgewiesene Toxin zu erklären.

**Maclean** (648) weist auf folgende, wahrscheinlich durch diphtherietoxische Nebennierenschädigung bedingte Diphtheriesymptome hin: a) geringe Steigerung der Körpertemperatur; b) erniedrigter Blutdruck; c) allgemeine Asthenie mit der Neigung zum Kollabieren; d) Übelkeit, Erbrechen; e) Bauchschmerzen; f) Gedächnisstörungen; g) Blutzuckererniedrigung; h) Wasserretention; i) Na- und Cl-Abnahme und K-Zunahme im Blut. Nach **P. Bamberger, Never** und **Oelkers** (593) führt die bei der Diphtherie vorkommende Hypochlorämie zur Erhöhung des Rest-N in Blut und Gewebe (ähnlich wie bei dem hypochlorämischen Pylorospasnus, der auch zu einer Azotämie führt).

**Ascorbinsäure in Nebennieren. E. Harde** (624) sah, daß die Nebennieren der Kaninchen nach einer Diphtherieintoxikation an Ascorbinsäure verarmten; bei den toxinresistenteren Mäusen war das schwächer ausgeprägt. **Cardoso** (601) hat festgestellt, daß die Nebennieren der diphtherievergifteten Meerschweinchen ihre Fähigkeit Silbernitrat zu reduzieren verloren haben. Er erklärt das mit einer Zerstörung der Ascorbinsäure in den Nebennieren durch das Diphtherietoxin. Nach einer Diphtherieintoxikation ist die Abnahme von Ascorbinsäure in Nebennieren, Pancreas und Nieren (im Mittel um 38,25 und 21 % des Normalwerts) auch von **Lyman** und **King** (647) nachgewiesen worden. In der Leber wurden die reduzierenden Substanzen manchmal vermehrt. Auch **J. Kligler, J. Leibowitz** und **M. Berman** (274) beobachteten bei diphtherievergifteten Meerschweinchen eine starke Ascorbinsäureabnahme in den Nebennieren; die Säure verschwand bei Anwendung von letalen Dosen vollständig (siehe auch **S. Thaddea** und **W. Hofmeister** (672), **Harris u. a.** (625)).

**C. Torrance** (674) spritzte den Meerschweinchen 1/3 Dlm Diphtherietoxin ein und beobachtete nach 24 Stunden zuerst eine Steigerung des Ascorbinsäuregehalts ihrer Nebennieren um ca. 60 % über die Norm. Nach weiteren 24 Stunden stieg die Ascorbinsäure weiter an und ging erst nach 72 Stunden wieder zurück, aber nicht bis zur Norm. Bei vier Tieren blieb am sechsten Tage, als die Nekrosen in den Nebennieren schon ausheilten, der Ascorbinsäuretiter noch um ca. 270 % über dem bei den Kontrollen. Bei einem Meerschweinchen, das nach 1 Dlm einging, war die Ascorbinsäure in den Nebennieren um 15 % erniedrigt. In weiteren Versuchen (675) sah **Torrance**, daß die Blutungen in den Nebennieren bei diphtherievergifteten Meerschweinchen desto stärker wurden, je niedriger ihr Gehalt an Ascorbinsäure war. Wenn man gleichzeitig mit dem Diphtherietoxin Ascorbinsäure darreichte, waren die Hämorrhagien weniger ausgedehnt. **Torrance** vermutet, daß die Ascorbinsäure in den Nebennieren durch das Diphtherietoxin zerstört wird. In neuester Zeit (676) fand er, daß die niedrigste Toxindosis, die den Ascorbinsäuretiter in den Nebennieren noch verringern kann, der Dlm des Toxins für einige Tiere entspricht. Ihre Größe schwankt bedeutend, je nach der Tierempfindlichkeit.

**Haas** (623) stellte bei Meerschweinchen, die eine ascorbinsäurereiche Nahrung erhielten, fest, daß der Ascorbinsäuregehalt ihrer Nebennieren 1—2 Tage nach Ein-

spritzung von $^{1}/_{3}$ Dlm des Diphtherietoxins deutlich abnahm. Bei den Tieren aber, die eine ascorbinsäurearme Diät erhielten und deren Nebennieren an Ascorbinsäure arm waren, ließ sich dieser Ascorbinsäureschwund nicht feststellen. Eine Ascorbinsäuresteigerung wurde nach einer Diphtherievergiftung, auch vorübergehend, nicht beobachtet.

Im Gegensatz dazu konnte **Parvis** (658) keinen Zusammenhang zwischen den geringen jahreszeitlichen Schwankungen des Ascorbinsäuregehalts in verschiedenen inneren Organen von Meerschweinchen und ihrer Empfindlichkeit gegenüber dem Diphtherietoxin feststellen.

Eine interessante Auffassung über die Bedeutung dieser Ascorbinsäureschwankungen in den Nebennieren bei der Diphtherieintoxikation hat **Kossel** (634) herausgebracht. Er sah in den Nebennieren der skorbutkranken Meerschweinchen Erscheinungen auftreten, die denjenigen bei einer Diphtherieintoxikation weitgehend ähnlich waren. Er betrachtet Skorbut als eine C-Avitaminose **ex alimentatione,** die Diphtherievergiftung als eine solche **ex consumptione.** Andererseits erwägt er die Möglichkeit, daß der Ascorbinsäureschwund für die Nebennieren eine typische und für sie charakteristische Reaktionsform auf verschiedentliche Schädigungen sein könnte.

Außer den Nebennieren kommt es im Verlaufe der Diphtherieintoxikation auch zu Ascorbinsäureschwankungen im **Blut** und **Harn. Nuzzi** (654) beobachtete bei einer tödlichen Diphtherievergiftung der Meerschweinchen Ascorbinsäurevermehrung in Blut und Milz.

**Salassa** (660) beobachtete bei den Diphtheriekranken, daß der Ascorbinsäuretiter im Blut gegenüber der Norm erhöht war, und zwar am Anfange der Erkrankung stärker als in der Rekonvaleszenz. Diese Veränderung war von der Schwere der Erkrankung unabhängig. Am Tier sah **B. Ghosh** (618, 619), daß nach einer Diphtherieintoxikation der Ascorbinsäuregehalt im Blut, Leber, Nieren und Nebennieren vermindert war. Die Ausscheidung der Redform der Ascorbinsäure im Harn sank ab; die Gesamtascorbinsäure im Harn (Red+Ox-Formen) war gesteigert. Dagegen konnten **H. Hertel** und **L. Arnold** (629) bei 23 Diphtheriekranken keine Veränderungen in der Serum- und Harnascorbinsäure finden. **Kündiger** und **Salus** (636) sahen bei den Diphtherieerkrankungen eine Verminderung der Ascorbinsäureausscheidung im Harn, die der Schwere der Erkrankung parallel verlief. Wenn der Ascorbinsäuredefizit bei leichten Fällen groß ist, so ist das als Zeichen einer noch vor der Diphtherieerkrankung vorhandenen C-Hypovitaminose anzusehen. Beim Auftreten von Serumexanthem wird der Ascorbinsäuredefizit noch gesteigert. **Woldrich** und **Lorentz** (686) fanden im Gegensatz dazu, daß die Ascorbinsäureausscheidung im Harn bei schwerer Diphtherie zu Beginn der Erkrankung vergrößert ist, später aber abnimmt. Belastet man in diesem Stadium den Kranken mit Ascorbinsäure, so steigt die Ausscheidung dieser Säure wieder an. Die fortlaufende Ascorbinsäurezufuhr kann ihre Verluste im Verlaufe der Erkrankung kompensieren.

Die Frage der Ascorbinsäure bei der experimentellen und klinischen Diphtherieintoxikation gewann mit der Zeit eine größere Bedeutung, als von vielen Seiten über erfolgreiche Versuche der prophylaktischen und terapeutischen Beeinflussung der Diphtherie durch Ascorbinsäure (besonders in Kombination mit dem Nebennierenrindenhormon) berichtet wurde. Wir beschränken uns in dieser Übersicht hauptsächlich auf die beim Tier gewonnenen Ergebnisse. In der Klinik wandelte sich die anfangs geäußerte optimistische Einstellung gegenüber dieser neuen therapeutischen Methode mit der Zeit, als die Berichte über die klinischen Mißerfolge sich mehrten. Man kann von den die Aussichten solcher Therapie günstig beurteilenden Autoren — **Bamberger u. a.** (595, 596), **Kumagai u. a.** (635), **S. Thaddea** (671), **Bernhardt** (597), **Maclean** (648), **F. Szirmai** (668) u. a. nennen.

Negativ dieser Methode gegenüber verhalten sich — **S. Werner** (683), **H. Otto** (657), **Steinhardt** und **Türk** (666), **G. Tron** (678), **Zischinsky** (690), **Engelhardt** (616), **J. Dieckhoff** und **K. Schüler** (611) u. a.

**J. Pakter** und **B. Schick** (443), **Widenbauer** und **Saretz** (685) konnten mit verschiedentlich applizierten Ascorbinsäuredosen keinen Umschlag der positiven Schickreaktion bei Kindern erzielen.

Wie schon im Kapitel über das Diphtherietoxin erwähnt wurde, haben die Lösungen der Ascorbinsäure, sowie des neutralen Na-ascorbinats die Fähigkeit das Diphtherietoxin vermöge ihrer Redoxsubstanznatur in vitro zu entgiften.

**P. Polonyi** (445) fand, daß Ascorbinsäure bei Diphtheriekulturen den Verlust ihrer Virulenz sowie des Hämolysevermögens verursacht. Gleichzeitig nimmt die Reduktionskraft der Ascorbinsäurelösungen ab. Dasselbe hat auch **J. v. Gagyi** (617) gesehen; in der Rekonvaleszenz soll nach ihm die Empfindlichkeit der Diphtheriebakterien gegenüber der Ascorbinsäure abnehmen, sie werden gleichzeitig auch immer weniger virulent. Die für Ascorbinsäure empfindlichen Keime haben die Fähigkeit, die Ascorbinsäure selbst in vitro zu zerstören.

Diese ascorbinsäurezersetzende Fähigkeit kommt auch dem Diphtherietoxin zu. Wie **C. Torrance** (677) feststellte, sinkt im Gemisch des Na-ascorbinats und Diphtherietoxins innerhalb des pH des Säugetiergewebes bei 37 ° seine Reduktionsfähigkeit deutlich ab. Das soll auf einer Ascorbinsäuredehydrierung beruhen. Das gekochte Toxin hat dieselbe Wirkung in vitro gezeigt. Während aber das native Toxin beim Meerschweinchen zu einer deutlichen Ascorbinsäureabnahme in den Nebennieren führt, bleibt die Einspritzung von gekochtem Toxin ohne solche Wirkung. Die durch das Diphtherietoxin bewirkte Ascorbinsäureoxydation in vitro ist von reversibler Natur, schreitet also nur bis zur Stufe der Dehydroascorbinsäure vor.

Wir konnten uns ebenfalls in einigen unveröffentlichten Versuchen davon überzeugen, daß das von uns verwendete Toxin in den Lösungen der Ascorbinsäure in vitro (bei pH = 4) eine Beschleunigung ihrer Autooxydation an der Luft bewirkt. Da diese Förderung der Ascorbinsäure-Autooxydation in Anwesenheit von KCN fast komplett gehemmt wurde, konnte man vermuten, daß es sich hierbei um eine durch Schwermetallspuren (in erster Linie durch Kupferspuren im destillierten Wasser) bewirkte Autooxydation der Ascorbinsäure handeln muß. Das Diphtherietoxin könnte dabei die Rolle eines unspezifischen kolloidalen Proteinträgers spielen, der die oxydierende Wirksamkeit des Kupfers u. a. steigern könnte.

Ob das Diphtherietoxin auch in vitro, etwa im kreisenden Blut und in den inneren Organen, irgendwelche Veränderungen im Oxydationszustand der Ascorbinsäure oder in ihren Bindungsformen auszuüben vermag, kann nur die weitere Forschung ergeben.

Noch vor der Identifizierung der Ascorbinsäure als Vitamin C haben **P. Kesch** und **K. Strelow** (l. c) nachgewiesen, daß das Nebennierenmark bei gleichzeitiger Injektion mit dem Diphtherietoxin den Tod der vergifteten Tiere hinausschiebt. Die Nebennierenrinde blieb dabei wirkungslos, wenn sie vom Toxin getrennt an einer anderen Stelle einverleibt wurde. Zusammen mit dem Toxin gespritzt wirkte sie lebensrettend. **J. A. Arkwright** und **S. Zilva** (591) sahen, daß die skorbutkranken Meerschweinchen die subkutane Toxinvergiftung schlechter vertrugen und schneller zugrunde gingen. (Siehe auch **Bieling** (599)). **E. Molinelli** (649) beobachtete, daß die nebennierenlosen Tiere eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber dem Diphtherietoxin aufweisen.

Nachdem die Ascorbinsäure chemisch rein dargestellt wurde, begann eine ganze Reihe von Untersuchungen, die den Einfluß der vorausgehenden, gleichzeitigen oder nachträglichen Darreichung von Ascorbinsäure auf den Verlauf der Diphtherieinfektion- und intoxikation beim Tier verfolgten. Hierbei wurde diese Säure öfter gemeinsam mit dem Nebennierenrindenhormon appliziert.

Als erste beobachtete **E. Harde** (l. c.), daß bei gleichzeitiger Zufuhr von 1 Dlm Diphtherietoxin und 10 mg Na-ascorbinats per os oder subkutan (mit nachfolgender Behandlung mit 15—20 mg dieser Substanz pro Tag), die Hälfte der Tiere am Leben blieb. Man dachte zuerst an die Fixation des Toxins an der Injektionsstelle durch Ascorbinsäure, die die Kapillarenpermeabilität vermindert und dadurch die Toxinresorbtion verlangsamen kann. Wurde die Ascorbinsäure vor der Toxininjektion gegeben, konnte man aber keine Schutzwirkung feststellen (**E. Harde** und **M. Philippe** (416)).

Weiterhin fütterten **C. K. Greenwald** und **E. Harde** (412) die Meerschweinchen täglich mit je 10—20 mg Ascorbinsäure im Laufe von 1—2 Tagen vor der Vergiftung mit 1 Dlm Toxins. Die Tiere blieben am Leben, besonders wenn sie auch nachträglich mit Ascorbinsäure behandelt wurden. In Injektionen dargereicht blieb die Ascorbinsäure wirkungslos.

**C. W. Jungeblut** und **R. L. Zwemer** (419) sahen, daß die während sechs Tagen mit Ascorbinsäure bzw. Na-ascorbinat vorbehandelten Meerschweinchen auf eine intrakutane Injektion von Diphtherietoxin (0,02 Dlm) nicht mit einer Hautreaktion antworten. Bei gleichzeitiger subkutaner Einspritzung an zwei verschiedenen Stellen von 2 Dlm Toxins und 1—200 mg Ascorbinsäure blieb die Hälfte der Tiere am Leben. Eine Beziehung zwischen der Überlebensquote und Ascorbinsäuredosis war nicht festzustellen. Wurden den Tieren gleichzeitig **Cortin** und Diphtherietoxin gegeben, so benötigte man 100—200fache Dosis von Cortin, um die Tiere zu schützen, verglichen mit der für die Toxinentgiftung in vitro benötigten Cortinmenge. Bei 1—2 Tage mit Cortin vorbehandelten Tieren blieben die Hautreaktionen auf das Toxin aus.

**R. Whitehead** und **C. A. Fox** (684) fanden, daß bei 105 mit letalen Dosen des Diphtherietoxins vergifteten Meerschweinchen die Behandlung mit dem Cortin keinerlei Schutzwirkung ausübte; trotzdem beobachtete man eine gewisse Verlängerung der Lebensdauer.

**O. Grooten** und **M. Bezsonoff** (414) haben bei Verwendung von schwachen (in neun Tage die Tiere tötenden) Toxindosen die Hälfte der Tiere durch gleichzeitige Injektion von Na-ascorbinat gerettet. Sie denken aber nicht an eine direkte Toxinentgiftung durch Ascorbinsäure in vivo, sondern glauben vielmehr an ihre abwehrsteigernde Einwirkung auf den Gesamtorganismus.

Bei den durch ungenügende Zufuhr von Ascorbinsäure „präskorbutisch“ gemachten Meerschweinchen tritt der Diphtherietod schneller als bei den normal ernährten ein (**King** und **Menten** (632)). Nach **L. Weed** und **Fenlon** (682) treten bei den skorbutkranken Meerschweinchen die Hautreaktionen auf Diphtherietoxin 1—2 Tage später auf als bei normalen oder präskorbutischen. Blutungen und Nekrosen an der Injektionsstelle des Toxins sind bei den skorbutkranken Tieren besonders stark ausgeprägt; $O_2$-Verbrauch ihrer Leber und Nieren ist um 10—15 % erniedrigt. Dasselbe konnten auch **J. v. Gagyi**, **A. v. Jeney** und **B. Baranyai** (631) bestätigen. Erhielten die auf der Skorbutdiät gehaltenen Meerschweinchen vom dritten Diättag ab täglich eine Zulage von 1—2 mg Ascorbinsäure oder Na-ascorbinat, so wurde ihre Resistenz gegenüber dem Diphtherietoxin größer als bei den skorbutkranken Kontrollen. Bei behandelten Tieren wurden die diphtherietoxischen Veränderungen in Nebennieren, Hypophyse, Corpus luteum (besonders an Ascorbinsäure reichen Organen) geringer als bei den Skorbuttieren. Die Geschwüre an der Injektionsstelle bildeten sich bei ihnen eher, blieben aber mehr an der Oberfläche und heilten schneller als bei den Skorbutkontrollen aus.

Bei den ungenügend mit Ascorbinsäure versorgten Tieren (0,5 mg pro Tag), die mit Diphtherietoxin vergiftet waren, war die Gewichtsabnahme stärker als bei den ausreichend mit Ascorbinsäure versorgten Tieren — 5 mg täglich — (**A. Sigal** und **C. G. King** (467)). Auch die bei der Diphtherieintoxikation vorkommenden Veränderungen im Kohlehydrat-Belastungsversuch waren bei den ungenügend mit Ascorbinsäure ver-

sorgten Tieren stärker ausgeprägt. Nach Angaben von **H. Bock** und **H. Großmann** (600) erwies sich eine Dosis von 10 mg Ascorbinsäure täglich beim Meerschweinchen als die vor einer Diphtherieerkrankung optimal schützende; schon 30 mg zeigten eine weniger günstige Wirkung.

Im Gegensatz zu diesen positiven Ergebnissen mit der Ascorbinsäure konnten **Schwarz** und **Cislaghy** (465), **H. Weber** (681), sowie **S. Zilva** (689) keine schützende Wirkung der Ascorbinsäure der Diphtherieintoxikation den Meerschweinchen gegenüber feststellen. **E. Berger** (598) konnte keinen Unterschied in der Überlebensdauer der diphtherievergifteten Meerschweinchen beobachten, gleichgültig ob sie normal ernährt waren (Ascorbinsäure in ihren Nebennieren = ca. 40 mg %) oder sich im präskorbutischen (Ascorbinsäure in Nebennieren = 3—5 mg %) oder skorbutischem (Ascorbinsäure in Nebennieren = 0) Zustande befanden. Wurde einigen Tieren gleichzeitig mit dem Toxin Ascorbinsäure oder Pancortex gegeben, so konnte trotzdem bei ihnen keine Lebensverlängerung beobachtet werden. Auf Grund dieser Beobachtungen wird die Beeinflussung der experimentellen Diphtherieintoxikation durch Ascorbinsäure und Cortin abgelehnt. Man muß aber bemerken, daß die Anzahl der in diesen wie auch in einigen anderen diesbezüglichen Versuchen verwendeten Tiere so klein war, daß eine statistische Sicherung und Beurteilung ihrer Ergebnisse sehr erschwert ist.

Was die nachträgliche Behandlung der diphtherievergifteten Tiere anbetrifft, beobachtete **P. Polonyi** (l. c.), daß bei den behandelten Tieren die Krankheitssymptome schwächer waren und manche Tiere die Vergiftung überleben können. **S. Thaddea** (669, 670) fand bei den mit dem Diphtherietoxin schwer vergifteten Meerschweinchen, bei denen der Tod in 50 Stunden eintrat, außer ausgedehnten Blutungen und Nekrosen in der Nebennierenrinde, noch die weitgehenden Störungen im Kohlehydratstoffwechsel (Verschwinden des Leberglykogens, Verminderung des Milchsäuregehalts im ruhenden und tetanisierten Muskel, starke Kreatinurie). Bei einer kombinierten Ascorbinsäure + Cortin-Behandlung blieben die Tiere am Leben, die Veränderungen in der Nebennierenrinde, sowie im Kohlehydratstoffwechsel blieben aus. Cortin allein erwies sich als unwirksam. Große Dosen von Ascorbinsäure führten gelegentlich zum Überleben von Tieren.

Die Wirkung der Ascorbinsäure + Cortin-Therapie wird von **Thaddea** (669) als unspezifisch betrachtet; es muß dabei zu einer Erhöhung der allgemeinen Widerstandsfähigkeit des Tierorganismus gegenüber Schädigungen verschiedenster Art kommen. Daß bei diesen Prozessen das Retikulo-Endothel beteiligt ist, beweist das Ausbleiben der Heilwirkung der Ascorbinsäure + Cortin-Therapie bei den mit Elektrokollargol intravenös vorbehandelten Tieren.

Eine ähnliche lebensverlängernde, manchmal auch lebensrettende Wirkung bei diphtherievergifteten Tieren wurde auch bei ihrer Behandlung mit Zystein, Glutathion und Detoxin beobachtet (**H. Lotze** und **S. Thaddea** (646), **S. Thaddea** und **Hofmeister** (672)). Mehrere Aminosäuren, Glyzyl-Glyzin, Natriumsulfat, Au- und Ag-Präparate, Pernämyl und Vitamin A erwiesen sich dabei als wirkungslos. Auch in diesem Falle wirkte die Blockade des Retikulo-Endothels als erfolgswidrig.

**J. Dieckhoff** und **Laurentius** (610) bestätigten, daß die Ascorbinsäure das Leben der diphtherievergifteten Kaninchen verlängern, nicht aber retten kann. Die Tiere gehen an schweren Parenchymschädigungen zugrunde. Cortin allein ist wirkungslos. Ascorbinsäure + Cortin, wenn rechtzeitig (spätestens acht Stunden nach der Vergiftung) angewandt, können noch das Leben der Tiere retten; späteres Einsetzen der Therapie kann den Tod der Tiere nur aufhalten. Bei Diphtherie-, sowie bei Ruhr-Intoxikationen der Katzen (**J. Dieckhoff** (568)) kommt es genau so wie bei nebennierenlosen Tieren und Addisonkranken zu: Blutdrucksturz, Verkleinerung der zirkulierenden Blutmenge und einer Bluteindickung, sowie zu der Erhöhung der Empfindlichkeit ihrer Blutdruckregulation gegenüber dem Histamin. Auch diese Veränderungen bleiben viel weniger ausgeprägt, wenn spätestens 8—10 Stunden nach der Vergiftung die Tiere

mit **Percorten behandelt** wurden. Erhalten die Tiere Percorten erst 24—48 Stunden nach der Intoxikation, so kommt es zu denselben schweren Störungen des Blutdrucks und der zirkulierenden Blutmenge, wie bei den unbehandelten Tieren.

Die Ascorbinsäure + Cortin-Behandlung kann auch die durch die Veränderung der Kapillarenpermeabilität bedingten Störungen im Elektrolyt- und Gasstoffwechsel im Blut und Gewebe günstig beeinflussen, wenn sie rechtzeitig (8—10 Stunden nach der Vergiftung) begonnen wird (**J. Dieckhoff** und **Schulze** (604)). Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß die Injektion von thyreotropem Hormon der Vorderhypophyse eine ähnliche Wirksamkeit wie die Ascorbinsäure + Cortin-Therapie bei der experimentellen Diphtherievergiftung besitzt. Auf diese innersekretorischen Wechselbeziehungen wollen wir später eingehen.

Auch **Herbrandt** (627, 628) beobachtete bei Katzen und Meerschweinchen eine lebensrettende Wirkung von **Pancortex** bei der Diphtherievergiftung. Ascorbinsäure allein war in kleinen Dosen unwirksam; in größeren könnte sie die Hämorrhagien in den Nebennieren teilweise hintanhalten. Die Wirkung von Nebennierenrindenpräparaten auf die Nebennierenblutungen ist nach **Herbrandt** so deutlich, daß man sie als Grundlage für eine biologische Auswertung der Cortinpräparate anwenden könnte.

**Schultz** und **Hecht** (464) glauben, daß die Ascorbinsäure, wenn sie auch das Leben der diphtherievergifteten Tiere verlängern kann, trotzdem aber nicht imstande ist die in den parenchymatösen Organen schon vorgekommenen Schäden rückgängig zu machen. Sie schließen daraus, daß die Ascorbinsäure nur auf das im Blut kreisende, nicht aber auf das im Gewebe schon verankerte Diphtherietoxin entgiftend wirken kann. Bei diphtherievergifteten Meerschweinchen kommt es zu deutlichen Schädigungen der Odontoblasten und des Dentins. Bei täglicher Zufuhr von 0,8 mg Ascorbinsäure sind diese Erscheinungen schwächer entwickelt; bei 5 mg fehlen sie gänzlich (**C. King**, **R. Musulin** und **W. Swanson** (633). Auch auf die durch das Toxin beim Tier hervorgerufenen Störungen in Anzahl und Aussehen der Blutzellen (besonders Erythrozyten) wirkt die Ascorbinsäure verbessernd (**A. Sigal** (664)).

Weiterhin wurde die therapeutische Wirksamkeit von ausreichenden Dosen an Ascorbinsäure und Cortin im Tierversuch von **H. Schmidt** (661), **A. Ebel** u. **H. Mautner** (613), sowie von **A. C. Yen**, **T. J. Kurotchkin** und **H. C. Chang** (688) nachgewiesen.

**A. Aicham** und **H. Bock** (590) sahen bei der Behandlung von experimenteller Conjunctiva-Diphtherie, sowie der kutanen Reaktion auf die Toxininjektion beim Tier gute Erfolge mit Ascorbinsäure + Cortin.

**B. Vasile** (680) hat keine lebensrettende Wirkung von Ascorbinsäure allein bei der Diphtherieintoxikation der Tiere gesehen. Der Tod der Tiere war nur wahrscheinlich infolge der durch Ascorbinsäure bedingten Kapillarenabdichtung und der dadurch verzögerten Toxinresorption aus dem Unterhautzellgewebe um ca. 24 Stunden verschoben. **W. Scott u.** a. (663), sowie **H. Hoffmann-Wülfing** (630) konnten mit den Nebennierenrindenpräparaten weder das Auftreten der Hautreaktionen bei subletalen, noch das Sterben der Tiere bei letalen Diphtherietoxindosen verhindern. Unter Einhaltung gewisser Bedingungen gelang dies aber mit **Sympathol**, wobei an die eventuelle toxinzersetzende Wirkung des Symphatols gedacht wurde.

Überblickt man diese zahlreichen und mannigfaltigen Literaturzitate über die Frage der Beeinflussung der experimentellen Diphtherievergiftung durch Ascorbinsäure und Cortin, so kommt man zu dem allgemeinen Schluß, daß diesen beiden Körpern dabei zweifellos eine bedeutende Rolle zukommen muß. In einem gewissen Mißverhältnis dazu stehen die negativen Resultate der neueren Versuche der Ascorbinsäure + Cortin-Therapie bei der Menschendiphtherie. Man muß dabei aber berücksichtigen, wie es besonders klar die Untersuchungen von **Dieckhoff** (607—609) gezeigt haben, daß die Behandlung von diphtherotoxischen Störungen beim Tier nur dann Aussicht auf Erfolg hat, wenn sie sehr frühzeitig — bis spätestens zehn Stunden nach

der Vergiftung — eintritt. Wahrscheinlich bewirkt das Diphtherietoxin in dieser Frist schon solche Veränderungen (wahrscheinlich in erster Linie an den Gefäßwänden), daß sie durch eine nachträgliche Ascorbinsäure + Cortin-Therapie nicht mehr rückgängig gemacht werden können.

Beim Menschen wird das Diphtherietoxin nicht auf einmal einverleibt, sondern wahrscheinlich erfolgt sein Übertritt in die Blutbahn kontinuierlich oder wenigstens in mehreren Schüben. Außerdem ist uns der Zeitpunkt des Einsetzens der Toxämie unbekannt, so daß die Ascorbinsäure + Cortin-Therapie fast immer zu spät kommt, wenn die durch Toxin angerichteten Schäden nicht mehr reversibel sind. Es kann daher von einer weiteren Ascorbinsäure + Cortin-Behandlung höchstens erwartet werden, daß sie die späteren Beschädigungen hintanhalten kann. Ob sie die schon bestehenden Schäden reparieren kann, ist mehr als fraglich.

Die Ascorbinsäure wirkt dabei in erster Linie als ein Redoxkörper. Dafür sprechen schon die oben zitierten Befunde von **Lotze** und **Thaddea** über die lebensrettende Wirkung solcher Redoxkörper wie des Zysteins und Glutathions. Besonders die Rolle dieses letzten — des **Glutathions** — wurde von **P. Locatelli** in einer Reihe von Arbeiten eingehend untersucht.

Sie fand zuerst (639), daß das Diphtherietoxin, ähnlich wie bei der Ascorbinsäure, auch beim Glutathion seine Dehydrierung an der Luft in vitro beschleunigen kann. Die Reaktion: 2 Glut.-SH = Glut-S-S-Glut. wird in Richtung der Bildung der oxydierten Disulfidform bevorzugt gefördert. Außerdem wird ein Teil des reduzierten Glutathions irreversibel zerstört. Dieser Verlust an Glutathion beträgt 30—50 % seines Anfangswerts. Er konnte mit toxinfreier Bouillon oder Peptonlösung nur im neutralen oder alkalischen Medium bewirkt werden. In saurem Milieu waren nur die toxinhaltigen Nährböden zur Glutathionzerstörung befähigt. Eine übermäßige Alkalisierung oder Säuerung des Milieus führt zu einer spontanen irreversiblen Zerstörung des Glutathions.

Die beiden Reaktionen, die reversible und die irreversible, können durch die gleichen Faktoren beeinflußt werden. So werden sie durch Sauerstoffdurchleitung beschleunigt, durch KCN oder im Vakuum gehemmt (640).

In vivo fand **Locatelli** (641), daß 30—60 Minuten nach Einspritzung einer massiven, in 4—6 Stunden die Tiere tötenden Toxindosis eine bedeutende Abnahme des reduzierten, sowie des gesamten Glutathions im Blut eintrat. Nach dieser anfänglichen Abnahme kommt es beim Kaninchen und beim Hund zu einer Blutgluthationvermehrung, die auch über den Anfangswert vor der Vergiftung ansteigen kann. Da es im Gewebe dabei zu keiner Glutathionabnahme kommt, kann man diese spätere Glutathionämie nicht mit einer Ausschwemmung des Glutathions aus dem Gewebe erklären (642). Sie ist teilweise durch Zunahme der relativen Menge von glutathionreichen Erythrozyten im eingedickten Blut, zum Teil auch möglicherweise durch Glutathionsynthese im Blut selbst bedingt. Es ist auch möglich, daß das zuerst in Anwesenheit von Toxin dehydrierte Glutathion im Blut später durch irgendwelche Hydrierungsmechanismen in reduzierte Form wieder übergeführt bzw. regeneriert wird (643).

Nach der Diphtherieintoxikation des Meerschweinchens kommt es außer der schon früher mehrfach erwähnten Abnahme der Ascorbinsäure in Nebennieren auch zu einer, wenn auch viel geringeren und später auftretenden Verminderung ihres Glutathions (644). Wenn aber das Diphtherietoxin vor der Einspritzung mit einer Lösung von reduziertem Glutathion vermischt wurde, überlebten die Tiere die Vergiftung, und bei ihnen traten keine Veränderungen im Ascorbinsäure- und Glutathiongehalt ihrer Nebennieren auf.

Durch eine Vorbehandlung mit 10 % Natriumthiosulfatlösung (intravenös) konnte **K. T. Gluchow** (621) beim Kaninchen eine lebensrettende Wirkung bis gegen 4 Dlm des Diphtherietoxins erzielen. Nachträgliche Thiosulfatbehandlung blieb wirkungslos.

### 5. Wirkung auf die übrigen endokrinen Drüsen

Es ist ohne weiteres klar, daß solche weitgehenden Veränderungen in den Nebennieren nicht die alleinigen im endokrinen System sind.

Nach **J. Dieckhoff** (604) treten am vierten Intoxikationstage im **Hypophysenvorderlappen** gewisse histologisch nachweisbare Veränderungen auf (Abnahme der chromophylen Bestandteile, Auftreten von großen, blassen „Erschöpfungszellen", Karyopyknose, interstitielles Ödem), die von dem Ausmaß der Zerstörung der Nebennierenrinde durch das Diphtherietoxin abhängig sind. Sie lassen sich durch frühzeitige Ascorbinsäure + Cortin-Behandlung in ihrem Entstehen verhindern. **G. Schallock** (702) aber konnte in dem Hypophysenvorderlappen bei 51 an perakuter Diphtherie verstorbenen Kinder keine organische Veränderungen feststellen.

Durch Abschwächung der Hypophysentätigkeit soll es nach **Dieckhoff** zu einer Verminderung der Bildung von thyreotropem Hypophysenhormon, sowie zu einer Abschwächung der Schilddrüsentätigkeit kommen. Nach der Zufuhr von thyreotropem Hormon wird die Schilddrüse wieder aktiv. Auch die Ascorbinsäure + Cortin-Therapie führt unter Vermittlung der Hypophyse zum Aufrechterhalten der normalen Tätigkeit der Tyreoidea bei einer Diphtherieintoxikation. **Wiethold** (705) konnte im Mittellappen der Hypophysen von diphtherieinfizierten Meerschweinchen und Kaninchen keine pethologischen Veränderungen feststellen.

Auch **P. Locatelli** (698) bestätigt, daß eine Dosis von Diphtherietoxin, die das Meerschweinchen in 48—72 Stunden tötet, nicht nur zu einer Zunahme des Gewichts der Nebennieren, sondern auch zu einer Vermehrung des Gewichts der Schilddrüse führt, während das Gewicht der Hypophyse dabei abnimmt. Die Thyreoideavergrößerung entspricht der Größenordnung nach derjenigen, die der Menge von thyreotropem Hormon entspricht, die in 200 mg getrockneter Vorderhypophyse enthalten sind. **Locatelli** beobachtete auch, daß Tiere, bei denen die Schilddrüse durch Zufuhr von thyreotropem Hormon oder Thyroxin in einem hyperthyreotischen Zustand versetzt ist, viel rascher als die normalen Tiere an Diphtherievergiftung verenden.

Nach **A. P. Andrejewa-Kostygowa** (691) ruft das Diphtherietoxin noch in einer Verdünnung 1 : 10.000 eine Verengung der Blutgefäße in der isolierten Schilddrüse des Hundes hervor, die ihr Maximum etwa nach zwei Stunden erreicht. Diese Erscheinung wird zur Erklärung des plötzlichen Todes nach unbedeutenderen Bewegungen von Diphtheriekranken, sowie des niedrigen Fiebers bei diesen Patienten herangezogen.

Weiterhin sah **Locatelli**, daß es bei den mit teilweise durch Glutathion entgiftetem Diphtherietoxin gespritzten Meerschweinchen, die nicht zugrundegingen, in 20—30 Tagen zu einer bedeutenden Vergrößerung des Maßes und Gewichts ihrer Nebennieren kommt (699). Auf Grund des histologischen Aussehens dieser hypertrophierten Nebennieren, ihres vermehrten Cholesteringehalts, sowie anderer Überlegungen, kommt **Locatelli** zu dem Schluß, daß alle diese Veränderungen nicht durch direkte Toxineinwirkung auf die Nebennieren, sondern indirekt durch die Beeinflussung der Thyreoideatätigkeit hervorgerufen werden.

Es scheint nach diesen bisherigen Forschungsergebnissen, daß bei der Diphtherieintoxikation ein gewisses Wechselspiel zwischen diesen drei endokrinen Drüsen besteht. Anfänglich beeinflußt das Diphtherietoxin die Nebennieren; ihre Beschädigung führt zur Inhibition der Bildung des thyreotropen Hormons in der Hypophyse und dadurch zur Verminderung der Schilddrüsenaktivität. Länger andauernde Störung dieser letzten Funktion führt ihrerseits zur Hypertrophie der Nebennieren, womit der endokrine Zyklus gewissermaßen geschlossen wird.

Am **Pancreas** hat **D. Combiesco** (694) bei dem diphtherievergifteten **Ziesel** (Citellus citellus) schwere hämorrhagische Entzündung beobachtet. Blutungen kommen in den

Wänden der Arteriolen vor. Wahrscheinlich ist das nebenliegende Parenchym auch in Mitleidenschaft gezogen. Dadurch kann es zu späterem Versagen des Pancreas kommen. Ähnliche hämorrhagische und nekrotische Veränderungen wurden auch in den Langerhansschen Inseln beschrieben (**D. Combiescu** und **V. Ionescu-Botez** (695)). Bei den an Diphtherie verstorbenen Kindern sieht man auch Hämorrhagien im Pancreas, die aber schwächer als beim Ziesel sind. Im **Thymus** von den an Diphtherie verstorbenen Kindern ist der retikuläre Apparat, besonders die Mastzellen, vergrößert (**Argaud** und **Pesqué** (692)).

In **Epithelkörperchen** tritt beim Hunde nach einer Diphtherie-Intoxikation eine starke Hyperämie mit Blutergüssen, hydropischer Degeneration und Zellnekrose ein. Klinisch fällt die Temperatur nach einer 3—4tägigen Erhöhung bis auf 33 ° ab, das Gewicht fällt, es stellt sich eine Apathie mit spastischen Paresen und klonischen Krämpfen der gesamten Körpermuskulatur und einer erhöhten Kalkausscheidung im Urin ein — alles Zeichen einer Epithelkörperchen-Insuffizienz (**Bojew** (693)).

In der **Leber** sieht man zuweilen bei toxischer Diphtherie pathologische Veränderungen. Nach **G. Schellhorn** (704) kommen in 21—23 % der Fälle — trübe Schwellung des Parenchyms, in 2 % Zeichen der Degeneration vor (bei den innerhalb der ersten 5—10 Diphtherietage verstorbenen Kindern). **Lotze und Thaddea** (646) haben in der Leber bei Diphtherievergiftung- Oedeme, Blutungen, diffuse oder circumscripte Läppchenverfettung gesehen. **H. Gohr** und **W. Bolt** (571) schließen auf Grund ihrer Laboratoriumsbefunde am Blute der Diphtheriekranken, daß bei ihnen kein Anhalt für das Vorliegen einer schweren irreparablen Leberschädigung durch das Diptherietoxin besteht. Dieses Organ ist jedenfalls viel weniger als z. B. Herz oder Nebennieren bei Diphtherie beschädigt. **G. Scheff** und **E. Horner** (703) sahen in der Leber von diphtherievergifteten Tieren eine bedeutende Abnahme des Fetts, **R. A. Crespi** (696), die des Glutathions.

Am **Hoden** ruft das Diphtherietoxin bei Ratten, in subletalen Dosen angewandt, gewisse Schädigungen des Epithels, der Spermiogenese und der Hormonproduktion hervor (**C. A. Pfeiffer** (701)). An den normalen Spermatozoen selbst löst es keine spezifische Reaktion aus (**L. Donaldson** und **A. Vorwald** (697)).

Das **Follikelhormon** hat bei weiblichen, das **männliche Keimdrüsenhormon** bei männlichen Meerschweinchen eine Schutzwirkung gegenüber dem Diphtherietoxin ausgeübt, die wahrscheinlich auf einer Erhöhung der allgemeinen Widerstandskraft der Tiere beruht (**M. Magara** (700)).

### 6. Wirkung anderer Vitamine als C

Nach den Beobachtungen von **C. Torrance** (716) sind die mit **Vitamin A** gefütterten Meerschweinchen nicht resistenter gegenüber Diphtherieintoxikation als die Kontrolltiere. Bei Verfütterung auch größerer Mengen von Vitamin A kommt es nicht zu einer Aufspeicherung in der Leber, ausgenommen wenn die frühere Ernährung der Tiere kein Vitamin A enthielt. Auch **J. Chalier** und **M. Jeune** (708) konnten keine schützende Wirkung der Vitamin A-Verfütterung bei einer Diphtherieintoxikation der Tiere beobachten. Trotzdem besteht eine Parallelität zwischer der Überlebensdauer der diphtherieinfizierten Tiere und dem Gehalt ihrer Leber an Vitamin A (**C. Torrance**).

**B. A. Peters** und **R. N. Cunningham** (712) konnten eine gewisse klinische Ähnlichkeit zwischen dem Spätstadium einer toxischen Diphtherie und der **Beri-beri** feststellen. Trotzdem wurde weder im Tierversuch noch bei diphtheriekranken Menschen eine Wirkung des Diphtherietoxins auf den **Aneurinstoffwechsel** (Vitamin $B_1$) — gemessen am Gehalt der Brenztraubensäure im Blut — nachgewiesen. Therapeutisch

gelang es **L. Frey** (710) mit großen Dosen von Aneurin nur die vagusbedingten Erscheinungen der Zwerchfellähmung zu mildern. Wirkung auf andere postdiphtherische Lähmungen wurden nicht eindeutig nachgewiesen. Nach **H. Reinhard** u. **K. Schwartzer** (713) war der Gehalt des Aneurins im Harn bei 17 Diphtheriekranken vermindert. Bei nicht komplizierten Fällen kehrt er in der Rekonvaleszenz wieder zur Norm zurück. Beim Auftreten der Lähmungen sinkt er wieder ab. Trotzdem ist eine deutliche Besserung der Lähmung nach der Aneurinbehandlung nicht zu sehen.

**F. Tecilazic** (715) berichtet über die gute prophylaktische Wirkung der frühzeitigen längeren Aneurintherapie und das Auftreten von Spätlähmungen bei Diphtherie. Die Lähmungen selbst konnte er nicht mit Aneurin ausheilen. Dagegen sah **E. Schröter** (714) mit dem Aneurin (Betaxin) bei Diphtherielähmungen gute Heilerfolge. **G. E. Donnovan** und **M. Bannister** (709) konnten allerdings nicht die Diphtherielähmungen und -Kreislaufstörungen, wohl aber die Störungen des Appetits und des allgemeinen Befindens bei Diphtherie beeinflussen.

**Nikotinsäure** übt keine Schutzwirkung auf die Diphtherietoxikation beim Meerschweinchen aus (**L. Perosa** und **P. de Vita** (711)).

**Vitamin E** bietet nach den Befunden von **U. Butturini** (607, 707) einen Schutz gegen die degenerativen Schädigungen von Nebennieren, Myocard, Skelettmuskeln, Leber und peripheren Nerven beim diphtherievergifteten Tier. Es hat auch eine gute Wirkung auf die postdiphtherischen Paresen beim Menschen. Seine optimale Dosis ist 3 mg pro Tag per os.

### 7. Wirkung auf die Nieren, Stickstoffwechsel, Blutdruck

An den **Nieren** von diphtherievergifteten Kaninchen beobachtete **G. Parassi** (724) folgende pathologische Veränderungen:

a) **beim akuten Diphtherietode** (in 2—3 Tagen): Blutungen aus den Glomerulusgefäßen und peritubulären Kapillaren; Nekrosen; perivaskuläre Infiltrate aus Polynuklearen;

b) **beim subchronischen Tode** (3—15 Tage): Veränderungen degenerativer Natur am Glomerulusendothel; Thrombosierung der Gefäße; Anfang der fibrozytären Proliferation;

c) **bei den überlebenden Tieren** (20—95 Tage nach der Intoxikation) diffuse Bindegewebswucherung in den Glomeruli; arrophische Veränderungen der von ihnen abgehenden Tubuli und Vermehrung des bindegewebigen Interstitiums. Alles in allem — ein toxisches umschriebenes Glomerulonephritis.

Dagegen betrachtet **Randerarth** (725) die bei Diphtherie des Menschen vorkommenden Nierenschädigungen als von vorwiegend nephrotischer Natur. Im Harn gibt es viel Eiweiß, kein Blut; viele Zylinder, spärliche Leukozyten im Sediment. Pathologische Veränderungen an den Nieren im Sinne einer Glomerulonephritis wurden nicht gesehen. Wenn Blut im Harn doch festgestellt wurde, handelte es sich nicht um eine Nierenentzündung, sondern um eine toxische Kapillarenschädigung. Auch **H. Stiepel** (726) sah bei 15 an Diphtherie verstorbenen Kindern in den Nieren nur nephrotische Veränderungen; bei acht davon wurden auch Nierenhämorrhagien gesehen, die auf eine toxische Gefäßwandschädigung in den Glomerulusschlingen zurückzuführen sind.

Auch **H. Brugsch** und **G. Fülling** (717), die eine Übersicht der älteren Literatur über die Nierenschädigungen bei Diphtherie gegeben haben, heben einen ähnlichen Harnbefund, wie **Randerarth**, hervor. Weder im Sediment noch im Eiweißgehalt des Harns

ist eine Parallelität zu der Krankheitsschwere zu finden. Bei stark verändertem Sediment fehlen Ödeme und Blutdrucksteigerung. Der erhöhte und weiter ansteigende Rest-N im Blut wird als prognostisch schlechtes Zeichen bewertet. Die Azotämie, die bis zu 90 mg % Rest-N ansteigen kann, wird aber nicht mit einer Nierenschädigung, sondern mit den Veränderungen in Nebennieren und Leber in Zusammenhang gebracht. Über Albuminurie bei Diphtherie siehe auch bei **O. Künzel** (723).

Die Azotämie kommt bei Diphtherieintoxikation schon sehr frühzeitig (nach 6—9 Stunden) und regelmäßig vor (**J. Chalier u. a.** (719, 720)). Sie ist von der angewandten Toxindosis abhängig und ist bei hungernden Tieren viel schwächer entwickelt. Diese Rest-N-Erhöhung entsteht nach **J. Dieckhoff** beim Tier auf Kosten des Residual-N; der Harnstoff-N ist relativ vermindert. Die Harnstoffsynthese in der isolierten Leber ist dabei gestört. Der Zusatz von Ascorbinsäure + Cortin zur Perfusionsflüssigkeit stellt diese Aktivität der Leber nicht wieder her. Dagegen bewirkt die frühzeitige Ascorbinsäure + Cortin-Behandlung der diphtherievergifteten Tiere die Normalisierung ihres Blut Rest-N.

Beim Menschen wurde die Erhöhung des Blut-Rest-N besonders des Harnstoff-N von **Deussing** (721) bei Diphtherie beobachtet. Während **K. H. Höffker** (722) zwischen der Höhe des Rest-N im Blut und der Krankheitsschwere keinen Zusammenhang findet, bewerten **Bennhodt-Thomsen** und **Dieckhoff** (606) dieses Symptom als prognostisch schlechtes Zeichen, besonders wenn der Rest-N im Blut im Laufe der Erkrankung ansteigt.

Nach den älteren Befunden von **Romberg, Pässler u. a.** kommt es bei Diphtherieintoxikation beim intakten Herz zu einem Blutdrucksturz, der durch Aortaabklemmung und NaCl-Infusionen verhindert werden kann. Bei 215 über sieben Jahre alten Kindern sah **W. Catel** (718) in 15 % der Fälle eine mehr oder weniger lange dauernde Blutdruckerhöhung bis zu 10—90 % über die Norm. Eine Nephritis war auch in der Anamnese nicht vorhanden. Die Ursache dieser Hypertonie wird deshalb in einer funktionellen oder anatomischen Störung der Nierendurchblutung, besonders in den Glomeruli und in den kleineren Vasa afferentia, gesucht. Dagegen erklärt **R. Voß** (729) die in fünf Fällen beobachtete postdiphtherische Hypertonie durch funktionelle Schädigung des Vasomotorenzentrums.

Endlich sei noch in diesem Zusammenhange einer in der neuesten Zeit erschienenen Arbeit von **F. Vacirca** (727, 728) gedacht. Er fand, daß die formolisierten Diphtheriekulturfiltrate (Formoltoxoide) im Tierversuch die Nieren vor der schädlichen Wirkung der **Uransalze** schützen können. Sie erhöhen die Uranausscheidung im Harn bei gleichzeitiger Verminderung der Diurese. Die wirksame Substanz wird **„Fattore V“** genannt. Sie wird nicht in den Keimen selbst, sondern im Nährboden auf Kosten einer seiner Bestandteile gebildet. Es handelt sich wahrscheinlich um ein Protein, bei dem die Besetzung seiner Aminogruppen mit Formol eine besondere Rolle spielen muß.

### 8. Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel

Störungen der einzelnen im Kohlehydratstoffwechsel beteiligten Mechanismen und Faktoren wurden bei der Diphtherievergiftung schon seit längerer Zeit beobachtet. Noch **F. Rosenthal** (751) fand, daß bei den Kaninchen, die mit einigen Dlm des Diphtherietoxins vergiftet wurden, der Tod in 24—36 Stunden unter hypoglykämischen Erscheinungen eintrat. Nach **A. Elkeles u. a.** (739) zeigen die an toxischer Diphtherie Erkrankten gewisse Zeichen der Hypoglykämie auf: Adynamie, Kreislaufschwäche, motorische Unruhe, relativ geringes Fieber. Andererseits wurden aber von denselben, sowie von einigen anderen Autoren bei den toxischen Diphtheriefällen ganz normale,

manchmal sogar erhöhte, manchmal aber erniedrigte Nüchternwerte des Blutzuckers gefunden. Nach den Belastungsproben mit einigen Zuckerarten beobachteten sie dabei eine Verschlechterung der Zuckerverwertbarkeit und zwar in der Reihenfolge: Glukose, Galatose, Fruktose.

Diese schlechte Zuckerverwertbarkeit ließ sich nicht durch Insulin verbessern (siehe auch **G. Boccuzzi** und **R. de Mattia** (732)). Da das Insulin, den Mäusen in einer Mischung mit Diphtherietoxin eingespritzt, gar keine Veränderungen in seiner Wirksamkeit zeigt, vermutet man, daß das Diphtherietoxin nicht zu einer Insulinzerstörung, sondern zu einer Erhöhung der Insulinoresistenz des Organismus führen muß. Die letzte Vermutung wurde von **Lawrence** und **Buckley** (745), sowie von **P. Ritterskamp** und von **R. Netzley** (749) an diphtherievergifteten Kaninchen bestätigt.

**P. Bamberger, H. E. Never** und **H. Oelkers** (593) haben dagegen auf Grund ihrer Belastungsversuche mit Galaktose und Fruktose geschlossen, daß bei Diphtheriekranken die Verwertung dieser Zucker nicht nennenswert gestört ist. Die Herabsetzung der Glukoseverwertung bei Diphtherie wurde aber noch von **F. J. Hector** (743), **A. Brems** (734) u. a. festgestellt. **F. Addari** und **F. Gottdenker** (730) sahen bei der Vergiftung von Meerschweinchen mit 1 Dlm des Diphtherietoxins: a) Hypoglykämie und b) eine verstärkte und verzögerte Blutzuckerkurve nach Glukosebelastung; Adrenalin und Ascorbinsäure können diese Erscheinungen abschwächen. Insulin wirkt sehr stark im Sinne einer Blutzuckersenkung.

Daß die bei Diphtherietoxikation auftretenden Blutzuckerstörungen unter dem Einfluß der Nebennieren und Nn. splanchnici stehen, hat **Mikami** (747) nachgewiesen. Er beobachtete bei den mit subletalen Toxindosen vergifteten Kaninchen eine Hyperglykämie und Glykosurie, die nach Durchschneidung von Nn. splanchnici ausblieben. Auch Elkeles (l. c.) konnte die Belastungshyperglykämie durch 0,5—1,0 ccm **Ergotamintartrats (Gynergens)** unterdrücken. Ob das Toxin direkt die Sympathicusendungen reizt oder dies erst durch eine vermehrte Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren bewirkt wird, blieb unentschieden. Im terminalen Stadium kommt es infolge der „Erschöpfung“ beider Systeme (Sympathicus und Nebennieren) zur Hypoglykämie und Adynamie. Diese Auffassung über die Rolle des Adrenalins bei der diphtherotoxischen Hyperglykämie erhält nach **Elkeles** noch eine Unterstützung im häufigen gleichzeitigen Fehlen der Zuckerausscheidung im Urin. Ist doch nach **Pollak** (zit. nach **Elkeles**) bei den protrahierten Hyperadrenalinämien das Vorkommen von hyperglykämischen Zuständen ohne Glykosurie oft zu beobachten.

Die von **P. Bamberger u. a.** (593) bei den mit Diphtherietoxin vergifteten Meerschweinchen nachgewiesene Hyperglykämie war mit Ascorbinsäure + Cortin-Therapie nicht zu beeinflussen. Dagegen beobachteten **C. de Marchi** und **E. Roncallo** (746), daß man mit Ascorbinsäure + Cortin bei der Diphtherieintoxikation gute therapeutische Erfolge auch bei den dann vorkommenden Kohlehydratstoffwechselstörungen erzielen kann.

Außer den Störungen im Blutzuckerspiegel und in den Zuckerbelastungskurven, kommt es im Verlauf der Diphtherieintoxikation auch zur Ausbildung anderer Anomalien im Kohlehydratstoffwechsel.

Der **Grundumsatz** ist nach **W. Bolt** (733) nach einem Latenzstadium von 8—10 Tagen vermindert. Diese Grundumsatzsenkung ist desto stärker, je schwächer die Intoxikation ist. Sie dauert meist bis zum Ablauf der dritten Krankheitswoche an und kehrt dann zur Norm zurück. Ihre Ursache soll in einer toxischen Schädigung des endokrinen Apparats liegen.

Der **Gehalt des Bluts an organischen Säuren** ist besonders am Anfang der Diphtherieerkrankung stark erhöht (**E. Wladimirowa** (753)). Die Erhöhung steht in einem gewissen Zusammenhang mit der Krankheitsschwere.

**C. R. Dawson** und **E. Holmes** (738) injizierten den hungernden Kaninchen langsam eine Lösung des Na-lactats in die Vene. Es kommt danach zu einer kurzdauernden Hyperglykämie und Hyperlactacidämie, die in drei Stunden abklingen. Gleichzeitig kommt es zu einer Glykogenspeicherung in der Leber. Wurde das Lactat den Kaninchen eingespritzt, die sich in einem frühen Stadium der Diphtherieintoxikation befanden, so war die Erhöhung der Blutglukose und -milchsäure viel stärker und andauernder; die Leber speicherte kein Glykogen auf. Wenn den diphtherievergifteten Tieren zwei Stunden vor der Lactateinspritzung Cortin **(Eucorton)** gegeben wurde, verschwand die verabreichte Milchsäure sehr bald aus dem Blut, und die Leber füllte sich mit dem Glykogen auf.

Die isolierten Leberschnitte von diphtherievergifteten Tieren können auch nur in viel geringerem Grade als die Schnitte von gesunden Tieren das Lactat aus der umgebenden Lösung verwerten. Cortin hat keinen Einfluß auf diesen Vorgang.

Auch im **Harn** ist in den ersten Tagen der Diphtherieerkrankung die **Säureausscheidung** vergrößert (**J. Csapo** (735)). Bemerkenswert ist an diesem Befund, daß bei den „toxischen“ Diphtheriefällen die Säureausscheidung im Harn nicht stärker als bei den „einfachen“ Diphtherieerkrankungen ist. In der Rekonvaleszenz verschwindet diese Erscheinung.

Am vierten bis fünften Tage nach der Diphtherieintoxikation des Kaninchens kommt es auch zu einer vermehrten **Diastaseausscheidung** im Harn (**W. Grunke** und **H. Lotze** (740)). Ihr Höhepunkt wird am siebenten bis zehnten Tage erreicht (bis 512 Einheiten der Diastase nach **Wohlgemuth**); etwa am zwanzigsten Tage kommt sie zur Norm zurück.

Von Wichtigkeit erscheint uns die Frage über die Beeinflussung des Glykogengehalts in den Muskeln (in erster Linie im Herzmuskel) durch das Diphtherietoxin. Diese Frage ist bisher von mehreren Autoren unterschiedlich beantwortet worden. **W. Grunke u. a.** (741, 742) sahen bei Meerschweinchen nach der Einspritzung von tödlichen Dosen Diphtherietoxins keine Veränderungen im Myokardglykogen. Bei längerer Einwirkung subletaler Dosen kommt es aber zu einer Glykogenabnahme. Später fanden sie bei der Verwendung gewisser Verbesserungen in der Glykogendosierung (besonders schnelle Verarbeitung des Materials unter Einfrierung in der flüssigen Luft usw.) bei Ratten, daß das Glykogen im Herzmuskel zum Teil erheblich vermindert war. Manchmal aber sahen sie, daß auch in Anwesenheit von deutlichen mikroskopischen Myocarditiszeichen der Glykogengehalt im Herzmuskel normal war. Die Ascorbinsäure + Cortin-Behandlung konnte das verminderte Herzglykogen nicht wieder zur Norm bringen.

**P. v. Kiss** und **Kulcsar** (744) beobachteten, daß bei vorgeschrittener Diphtherievergiftung der Meerschweinchen der Gesamtgehalt ihres Herzmuskels an Kohlehydraten um ca. 36 % erhöht war. Da nach den Befunden von **C.** und **G. Gori** (736) im Muskel das Glykogen praktisch den Gesamtkohlehydraten gleichgesetzt werden kann, glauben **v. Kiss** und **Kulcsar** damit auch die Erhöhung des Herzglykogens bei Diphtherie nachgewiesen zu haben.

Auch **P. Bamberger u. a.** (l. c.), sowie **H. Schumann** (752) konnten eine Vermehrung des Herzglykogens nach einer Diphtherievergiftung bei Tieren feststellen. Das Glykogen in Skelettmuskeln und Leber zeigte keine eindeutigen Abweichungen von der Norm. Eine Störung der Phosphorylierung der Glukose im Muskelbrei konnte **Schumann** durch das Diphtherietoxin nicht erzielen. Er spricht den Kohlehydratstoffwechselstörungen bei der Entstehung von Gewebsnekrosen bei Diphtherie keine besondere Bedeutung zu. Eine Abnahme des Glykogens nach Diphtherievergiftung glauben **Ebel** und **Mautner** (613) im Myokard histologisch, **S. Thaddea** (669) in den Muskeln chemisch nachgewiesen zu haben.

Bei jungen nüchternen Kaninchen im Frühstadium einer Diphtherieintoxikation sah **B. Corkill** (737), daß es nach Injektion von Insulin oder Insulin + Adrenalin zu keiner Glykogenablagerung in ihrer Leber kommt, die sonst bei gesunden Tieren regelmäßig danach auftritt. Nach dem Insulin kommt es bei vergifteten Tieren zu einer langsamen Blutzuckerabnahme, der aber nachher eine Steigerung folgt. Das letzte wird durch die verstärkte Adrenalinsekretion der Nebennieren bedingt. Das Ergotoxin hebt diese Insulinresistenz auf; die Störung der Glykogenablagerung in der Leber bleibt aber auch nach Ergotoxin bestehen.

Es scheint, daß das Diphtherietoxin tatsächlich an sich keine größeren Veränderungen im Kohlehydratstoffwechsel hervorruft. Bei den perakut diphtherievergifteten Meerschweinchen konnten **Bamberger u. a.** (l. c.) keine Änderungen in der Atmungsgröße des Gesamttieres, sowie in der Atmung und anaeroben Glykolyse von Herzmuskel, Nieren, Leber und Nebennierenmark feststellen. Bei der Nebennierenrinde war die Atmung, sowie die anaerobe Glykolyse 2—3mal verstärkt. Diesen letzten Befund versuchten die Autoren mit der Hyperämie der Nebennierenrinde, besonders aber mit Veränderungen in ihrem Ascorbinsäuregehalt in Verbindung zu setzen.

Nach **J. Dieckhoff** (609) ist der Sauerstoffverbrauch der isolierten Milz, Leber und Nebennierenrinde von diphtherievergifteten Tieren anfangs gesteigert. Andere Organe weisen keine Abweichungen im Sauerstoffverbrauch auf. Am vierten bis sechsten Krankheitstage atmen alle Organe deutlich schwächer als im gesunden Zustande.

Am isolierten Hühnerherzmuskel konnten **B. A. Peters** und **R. N. Cunningham** (750) keine Wirkung des Diphtherietoxins auf seine Atmung, aerobe und anaerobe Glykolyse feststellen. Es wirkt ebenfalls nicht auf folgende Fermente:

a) Succino-, Lactico-, Malico-, Oxybutiro-, Glyzerophosphat- und Pyruvico-Dehydrasen;

b) Amino-, Aminosäuren- und Adrenalinoxydasen;

c) eine Reihe von phosphorylierender Enzyme;

d) Autooxydation des Adrenalins.

Das Diphtherietoxin beschleunigt die Oxydation des Lezithins in Anwesenheit von Glutathion. Nach **Zubkowa** und **Kassil** (754) erhöhen die starken Diphtherietoxindosen den Katalasegehalt in der Leber, Muskeln und Nebennieren von Meerschweinchen und Kaninchen. Es ist noch nicht geklärt, ob dabei die Katalasewirkung gefördert oder die der Antikatalase gehemmt wird.

## 9. Beteiligung der Schwermetalle

**T. Wohlfeil** (757) berichtet:

1. **Ferro- und Cupri-Verbindungen** in großen Mengen prophylaktisch diphtherieinfizierten Meerschweinchen einverleibt, können lebensrettend wirken. Einmalige Gabe der Ferro-Salze vor oder nach dem Tage der Infektion soll deren Ablauf aber verschlimmern. Nachbehandlung nach erfolgter Infektion soll das Leben der Tiere verlängern, ohne die Mehrzahl der Tiere vor dem Tode zu bewahren.

2. **Dinatriumphosphat und Magnesiumsulfat** prophylaktisch gegeben, beschleunigen den Diphtherietod der Tiere. Länger dauernde Phosphatvorbehandlung (ohne Magnesiumsulfat) führt aber nicht zur Krankheitsverschlimmerung. Phosphat allein wirkt, **nach** der Infektion gegeben, wieder infektionsverstärkend.

3. Eisen- bzw. Phosphatprophylaxe kann die Wirkung der Serotherapie unterstützen.

Zur Erklärung dieser Befunde wurde die Hypothese aufgestellt, daß Mg- und $PO_4$-Ionen die kohlehydratspaltenden Fermente der Diphtheriebakterien im infizierten Tierkörper aktivieren und dadurch ihre Virulenz steigern können. Schwermetalle sollen nach **Wohlfeil** als Hemmstoffe im Kohlehydratstoffwechsel der Diphtheriekeime wirksam sein.

Andererseits unterstützen die Ferroverbindungen sowie die Phosphate nach **T. Wohlfeil** und **H. Becker** (758) die aktive Immunisierung von Meerschweinchen mit abgetöteten Diphtheriekulturen, sowie mit Präzipitatimpfstoffen. Ihre Wirkung soll von unspezifischer Natur sein, und zwar soll Phosphat die antiinfekteriellen Abwehrfunktionen des Organismus fördern.

**H. O. Hettche** (755) konnte keine schützende Wirkung der peroralen Darreichung von Fe, Cu- und Mn-Salzen auf die Diphtherieintoxikation beim Meerschweinchen nachweisen. Subkutan gegeben verlängerte Fe (sowie Fe + Cu + Mn) die Überlebenszeit der vergifteten Tiere auf das 3—4fache.

Bei den mit Fe-Salzen behandelten Tieren war der Fe-Gehalt in Leber und Milz 2—3mal vergrößert, nicht aber bei den Cu- und Mn-Tieren. Histochemisch konnte die Gegenwart von Fe nur in der Milz (und zwar besonders bei Cu- und Mn-Tieren) festgestellt werden. Es soll eine, wenn auch nur indirekte Beziehung zwischen der Überlebenszeit der Tiere nach der Diphtherieintoxikation und dem Fe-Gehalt ihrer Milz bestehen.

**Hettche** steht auf dem Standpunkt, daß alle drei Metalle (Fe, Cu und Mn) das Eisen aus seinen Depots im Organismus mobilisieren können (Reizeisen) und dadurch ihre antitoxische Fähigkeit bestätigen. Dabei ist nicht so sehr die absolute Fe-Menge, als seine Bindungsform von Bedeutung. Es handelt sich danach bei der Metallwirkung weder um eine Stimulierung der Antikörperbildung noch um eine Hemmung der Bakterienfermente, noch um eine Aktivierung der Gewebsfermente.

Diese Hypothese ist in der letzten Zeit durch Ergebnisse von **K. H. Schäfer** (756) ergänzt und bekräftigt worden. Er fand, daß bei der Maus das Verhältnis (Haemoglobin-Eisen) : (Körpergewicht) konstant ist. Dagegen ist der Quotient- (Gesamteisen der Gewebe) : (Körpergewicht) veränderlich und nimmt bei der Körpergewichtzunahme ab. Die Veränderung dieses Quotienten (bei gleichbleibendem Hämoglobingehalt des Blutes) kann unter gewissen Voraussetzungen als Maß für den Fe-Bedarf des Tieres angesehen werden.

An Meerschweinchen und Mäusen wurde gefunden, daß bei der Diphtherieintoxikation das Eisen im gesamten Gewebe angereichert wird, und zwar in erster Linie in Milz, Leber, Knochenmark und Lungen, während die Nieren und übrigen inneren Organe weniger daran beteiligt sind. Für den Grad der Milz-Hämosyderose ist die Schwere der Intoxikation von Bedeutung; eine strenge Parallelität existiert aber nicht.

Gleichzeitig kommt es zu einer Verminderung des Gesamtbluteisens. Diese Fe-Migration während einer Intoxikation oder Infektion wird als Ausdruck der gesteigerten Tätigkeit des RES angesehen.

Die Abnahme des Bluteisens (**Locke, Maine** und **Rosbash** (755a)) nach einer Injektion von Diphtherie- oder Tetanustoxin bei Pferden entspricht der bei den diphtherie-, scharlach- und masernkranken Kindern beobachteten Erniedrigung des Serumeisens (**Thoenes** und **Aschaffenburg** (756a)). Dieselbe Plasmaveränderung, begleitet durch eine gleichzeitige Plasmakupfervermehrung, wurde auch von **Heilmeyer, Keiderling** und **Stuewe** (754b), im Verlaufe der Diphtherieinfektion festgestellt; nach der Entfieberung kehren die Plasmaschwermetall-Werte zur Norm zurück. Es handelt sich dabei um „eine unspezifische und vorbereitende Reaktion des Organismus, welche der Antikörperbildung vorausgeht."

Das während der Infektion intravenös injizierte Eisen (Ce-Ferro-Ferro-ascorbinat) verläßt die Blutbahn schneller als bei gesunden Personen. Es wird in außerordentlich

starkem Maße im Retikuloendothel, besonders in der Milz, abgelagert. Dieselben Verhältnisse wurden nicht nur nach der Diphtherie-Toxinvergiftung, sondern auch nach Einspritzung von artfremdem Eiweiß oder Tuberkelbazillen beim Kaninchen (**Heilmeyer, Ehrich** und **Lange** (754a)), sowie nach der Streptokokken- und Staphylokokken-Infektion oder Tetanusintoxikation weißer Mäuse (**Schäfer** (756)) gefunden. Nach Milzextirpation sammelt sich das Eisen vikariierend in den Nieren und anderen Teilen des RES an.

Die Fe-Speicherung im Gewebe verläuft der Plasmaeisenverminderung parallel und scheint von dieser abhängig zu sein. Wenn nicht genügend Plasmaeisen zur Verfügung steht, werden die zum Haemoglobin-Aufbau dienenden Eisenmengen verbraucht und im Retikulo-Endothel aufgespeichert; hypochrome Infektanämien sind als Folge solchen Geschehens zu betrachten. Nach Abheilen des Infektes wird das im RES angesammetle Eisen den hämatopoetischen Organen abgegeben.

Der infizierte Organismus holt auch mehr Eisen aus der Nahrung entsprechend seinem erhöhten Eisenbedarf.

**Hettche** (l. c.) konnte eine bedeutende Zunahme des histochemisch nachweisbaren Eisens in der Milz im Verlaufe einer Infektion nachweisen; dieses Eisen wird von ihm als diejenige Eraktion, die besonders aktiv in die Toxin- und Infektabwehr eingreift, betrachtet. Dieser unspezifische Toxinschutz erstreckt sich aber nur auf die frei im Blute kreisenden Toxine und Bakterien, nicht auf die im Gewebe verankerten.

Es besteht wahrscheinlich ein gewisser Parallelismus zwischen der Abnahme des Titers des Serumeisens und der Blutascorbinsäure während des Infektgeschehens. Es wäre denkbar, daß dieser Ascorbinsäure-Mangel die physiologischerweise im Gewebe stattfindende Reduktion des Gewebsferrieisens zur Ferroform hintanhält und auf diese Art zur Aufstapelung des aktiven Ferri-Schutzeisens im Retikuloendothel führt (**Heilmeyer** (754a)).

### 10. Wirkung auf den Herzmuskel

Die pathologischen Veränderungen am Herzen hat **L. Oheim** (781) in der neueren Zeit an Leichen von 50 an Diphtherie Verstorbenen verfolgt, und dabei folgende Veränderungen festgestellt: Interstitielles Ödem, wachsartige und fettige Degeneration des Myocards, Myolyse, Verkalkungen, leuko- und lymphozythäre Infiltrate, sowie die Wucherung der fixen Zellen in den durch den Gewebszerfall entstandenen Lücken. Auch **Steffens** sah an Herzen bei den an Diphtherie Verstorbenen Auflockerung und Quellung der Myofibrillen.

Nach **T. Brugsch** (763) besteht die Herzschädigung in der ersten Diphtheriewoche in einer „serösen Entzündung", an die sich in der zweiten Woche eine schwere Degeneration des Myokards anschließt. In der dritten Woche kommt es zu einer Resorption des zerfallenen Parenchyms und zur Ausbildung von Granulationen, die in der vierten Woche in eine Schwiele übergehen. Infolge der Gefäßschädigung kommt es auch zu den subendokardialen Blutungen. Besonders geschädigt ist das Reizleitungssystem. Ähnliche Veränderungen am Herzen werden auch von **W. Grunke** (768) gesehen, der sie für die auftretende Kreislaufschwäche in etwa einer Hälfte der Fälle verantwortlich macht.

**Clauberg** und **Döring** (764) stellen fest, daß die histologischen Herzmuskelveränderungen bei den nach Diphtherievergiftung eingegangenen Meerschweinchen — im Gegensatz zu den Beobachtungen beim Menschen — auffallend gering waren, so daß der Spontantod dieser Tiere offenbar kein Herztod sein kann. In einem Viertel ihrer

Fälle vermochten letztgenannte Autoren überhaupt keinen pathologischen Herzbefund zu erheben; in einem weiteren Viertel fanden sie nur umschriebene, herdförmige Verfettungen. Vereinzelt waren einige kleine Fibroblastenwucherungen vorhanden. Frische Nekrosen konnten niemals nachgewiesen werden. Mit einer Ausnahme betrafen die erwähnten Veränderungen ausschließlich die Muskulatur des linken Ventrikels. **M. Gukelberg** (769, 770) hat die größten Myokardschädigungen bei den diphtherievergifteten Meerschweinchen in der Rundmuskelschicht, besonders früh an der Herzspitze, beobachtet. Diese Abschnitte des Herzens sind besonders schlecht mit Blut versorgt. Ihre Zellen enthalten wenig Indophenoloxydase, die im Laufe der Intoxikation noch abnimmt. Ascorbinsäure übte eine gewisse Schutzwirkung auf diese Oxydase, nicht aber auf das Überleben der Tiere aus.

Was die pathologische Phyliologie des Herzens bei den diphtherievergifteten Tieren betrifft, beobachteten **F. Addari** und **F. Gottdenker** (730) am Hund, daß sein Herz bis zum Tode normal schlug, trotz des auf Null sinkenden arteriellen Blutdrucks. Nach seiner Isolierung arbeitete das Herz noch stundenlang. Das Elektrokardiogramm blieb normal. Beim Meerschweinchen bewirkt das Diphtherietoxin am isolierten Herzen, je nach dem Toxin-Verdünnungsgrad, bald eine abschwächende, bald eine verstärkende Wirkung auf Myokard und Herzvagus aus (**S. Sagara** (785)).

**M. L. Reinhold** (783) sah am Starlingschen Herzlungenpräparat beim Hund, daß nach Diphtherieintoxikation das Minutenvolumen abnimmt, Blutdruck im rechten Vorhof absinkt; Stimulantia und Blutperfusion üben praktisch eine Wirkung auf das vergiftete Herz aus.

Nach **A. F. Hecht** (771) ruft das Diphtherietoxin beim Tiere keine interstitielle Myokarditis hervor. Ob an den postdiphtherischen Herz-Dauerschädigungen das Diphtherietoxin allein oder auch andere Ursachen schuld sind, ist noch unbekannt.

Auf das isolierte Kaltblüterherz übt das Diphtherietoxin keine Wirkung aus (**S. Roufgalis** und **J. Schröger** (784)). Das Diphtherietoxin erhöht den Sauerstoffverbrauch des Myokards in vitro, besonders des rechten Vorhofs (Kaninchen) und vermindert ihn, wenn das den linken Vorhof betrifft (**Michelazzi** und **Holz** (777)).

Eine besondere Erklärung der Pathogenese der diphtherietoxischen Herzschäden schlug **A. Beer** (759) vor. Die entzündlichen Herzveränderungen bei Diphtherie sollen unter der Einwirkung des im Blut kreisenden Toxins entstehen. Das Toxin wird im Myokard aus gewissen, noch nicht eindeutig geklärten Gründen, angereichert. Eine unmittelbare Wirkung des Toxins auf das Myokard sei unwahrscheinlich.

Zwischen der ersten Berührung des Myokards mit dem Toxin und dem Auftreten von ersten Herzschäden liegt gewöhnlich ein latentes „Inkubationsstadium". Das Bild der Diphtherietoxinwirkung auf das Herz entspricht nach **Beer** mehr einer allergischen Überempfindlichkeitsreaktion als der einer Vergiftung. **Beer** vermutet, daß das Toxin, gebunden an die Herzlipoide, eine Art von Antigen bildet, das das befallene Organ sensibilisiert und bei erneuter Toxinzufuhr zur Auslösung von lokal begrenzten Reaktionen am Herzen führt.

Die Veränderungen am Herzen im Verlaufe einer Diphtherieinfektion beim Menschen, sowie bei gelegentlich erst in der Rekonvaleszens auftretenden Spätschäden, besonders im Elektrokardiogramm, sowie die Elektrokardiogrammveränderungen beim Tier wurden in der letzten Zeit von vielen Autoren beschrieben, auf deren Besprechung wir im Rahmen unseres Berichts verzichten müssen. (**F. Josephstal** (772), **G. W. Parade** und **U. Peterson** (782), **E. Kielhorn** (773), **H. Schuppler** (786), **P. v. Kiss** (775), **C. Koppel** (776), **A. Beer** (760), **K. W. Glauberg** und **H. Döring** (764), **A. Nadrai** (779), **L. Norpoth** (780), **E. Schwingel** (787), **W. Bolt** und **H. Rotkopf** (762), **E. W. Strauch** (783), **F. Kienle** und **M. Witzemann** (774), **R. Boller** (761) u. a.)

Erwähnt sei lediglich, daß nach den oben genannten Feststellungen von **Clauberg** und **Döring** am Meerschweinchen diesen Autoren zufolge — entgegen anders lautenden Ansichten — die Elektrokardiographie kein geeignetes Verfahren zur Beurteilung der Diphtheriegiftwirkung bei diesen Versuchstieren sein kann.

Die experimentelle Beeinflussung der Myokarddegeneration bei Diphtherieintoxikation des Meerschweinchens hat noch 1931 **G. N. Myers** (778) mit Erfolg mit Digitalis und Strophantin versucht. Dagegen konnten **C. Edmunds** und **R. Smith** (767) auch durch 13 Tage dauernde Vorbehandlung den Meerschweinchen mit $^1/_4$ der tödlichen Dosis der Digitalistinktur keine Schutzwirkung auf ihr Herz erzielen. Nach einer Diphtherievergiftung steigt die Empfindlichkeit des Katzenherzens gegenüber dem Digitoxin und Quabain um 83 bzw. 64 % an (**J. Dieckhoff** und **E. Schulze** (765, 766)). Prophylaktische Digitalisierung verschlechtert die Herzleistung des diphtherievergifteten Herzlungenpräparates nach **Starling**. Strophantin wirkt darauf leistungssteigernd ein. Aber auch das Strophantin kann beim Meerschweinchen den Tod nur beschleunigen (**J. Ströder** und **S. Roufogallis** (790)).

### 11. Wirkungen auf das Gehirn und die peripheren Nerven

Das Gehirngewebe bindet in vitro von allen anderen untersuchten Geweben das Diphtherietoxin am meisten (**H. Schmidt** und **Stockhusen** (545)). Aber die Permeabilität der Blut-Liquor-Schranke für das Diphtherietoxin ist sehr gering, so daß unter den gewöhnlichen Verhältnissen nur sehr wenig Toxin aus dem Blut in den Liquor und von da aus in das Hirngewebe eindringt. Deshalb ist es nicht verwunderlich, daß Tiere mit sehr toxinempfindlichen Organen (Nebennieren, Kreislauf) — z. B. Meerschweinchen, Kaninchen eher zugrunde gehen, als bis sich im Blut genügend Toxin ansammeln kann, um in nennenswerter Menge bis zum Gehirn vorzudringen. Bei anderen, weniger toxinempfindlichen Tieren (Mäuse, Ratten), die nicht so rasch an der Intoxikation eingehen, können sich im kreisenden Blut genügend große Mengen Toxin ansammeln, um die Blut-Liquor-Schranke zu passieren. Deshalb sterben sie unter zerebralen Erscheinungen. Der Mensch gehört in dieser Hinsicht der ersten Gruppe an. Eine ausführliche moderne Darstellung dieses sehr wichtigen Gebiets findet man im Buche von **H. Schmidt** — **„Grundlagen der spezifischen Therapie“**, Berlin, 1940, S. 493—504.

Das Diphtherietoxin bindet sich sehr schnell an das Nervensystem (**G. Ruelle** (807)). Zu jener Zeit können die Körpersäfte noch kein Antitoxin enthalten. Auch die Zuführung des Antitoxins mit dem Heilserum kommt meist zu spät, weil die für die Nervenschädigung nötigen Toxinmengen zu dieser Zeit schon im Nervengewebe verankert sind. Nach **P. Massiére** (798) kann das Diphtherietoxin außer dem Angriff auf die Gehirnzellen selbst, auch das Endothel der Gehirnarteriolen soweit schädigen, daß diese beschädigten Stellen thrombosiert werden. Als Folge dieser Thrombosen, sowie der von ihnen ausgehenden Embolien, kann es zur Bildung von Erweichungsherden im Gehirn kommen, die das anatomische Substrat für eine Gruppe von zentral bedingten diphtherietoxischen Lähmungen bilden.

**W. Müller** und **G. Jakoby** (800), sowie **W. Müller** (799) sahen an den Leichen der an Diphtherie verstorbenen Kindern außer dem toxisch-gegenerativen und entzündlichen Gehirnveränderungen noch die Zeichen einer Hirnschwellung. Sie beschreiben ebenfalls eine histochemische nachweisbare Harnstoffanreicherung in dem Gehirngewebe. Sie wird als Folge einer extrarenal verursachten Harnstoffretention im Gewebe angesehen.

Histologisch fanden **P. v. Kiss** und **P. Horanyi-Hechst** (797) weder bei den an Diphtherie verstorbenen Kindern noch bei den diphtherievergifteten Meerschweinchen pathologische Veränderungen in den für die vegetativen Funktionen wichtigen Teilen des Zentralnervensystems (Hypothalamus, Pons, Medulla oblongata, sympathischen Grenzstrang, Seitenhörner des Rückenmarks). Besonders wird das Fehlen jeglicher mikroskopischer Schädigungen im Gebiet des Vasomotorenzentrums betont. In pathophysiologischen Versuchen konnten **P. Bamberger** und **Never** (731) mit dem Diphtherietoxin die Beweglichkeit der glatten Muskulatur im Meerschweinchendarm herabsetzen. Dagegen konnte **H. Ekerfors** (794) keinen Einfluß des Diphtherietoxins auf die Erregbarkeit des autonomen Nervensystems, sowie der glatten Muskulatur des isolierten Darms und Uterus beim Tier feststellen.

Bei Kaninchen und Katzen ruft das Diphtherietoxin erst Erregung, dann aber Paralyse des sympathischen Nervensystems hervor (**G. N. Myers** (801)). Diese Wirkung beginnt schon zu jener Zeit, zu der das Zentralnervensystem und der Parasympathicus noch völlig intakt sind. Sie hat die Paralyse des gesamten neuro-vaskulären Regulationsmechanismus zur Folge, und ist nicht durch die Abnahme des Adrenalins der Nebennieren bedingt.

Die wichtigsten beim Menschen vorkommenden diphtherietoxischen Störungen am Nervensystem sind die **Früh- und Spätlähmungen. J. Glaser** (795) beschreibt bei drei Fällen von postdiphtherischen Lähmungen deutliche degenerative und entzündliche Veränderungen an den Vorderhornzellen, des Rückenmarks und an den intraduralen Wurzeln. Zur Erklärung der Pathogenese der Spätlähmungen bei Diphtherie des Menschen erwägt **H. Schmidt** (l. c. S. 500) folgende Möglichkeiten: a) die verspätete Toxinbildung von den in inneren Organen zurückgebliebenen Bakteriennestern, wenn das passiv zugeführte Antitoxin schon aus dem Organismus ausgeschieden ist; b) das an das Toxin gebundene Antitoxin könnte mit der Zeit aus dieser Bindung durch Abbau verschwinden und dadurch das nicht neutralisierte Diphtherietoxin wieder freimachen, das von den Nervenzellen abgefangen wird. Zugunsten dieser letzten Auffassung sprechen die von einigen Autoren (z. B. **A. Doskocil** (793)) mit Erfolg durchgeführten Versuche der nachträglichen Behandlung der Spätlähmungen mit Rinder- bzw. Schafheilserum.

Die experimentellen Diphtherielähmungen wurden von **G. Ramon** (802—806) und seinen Mitarbeitern, sowie von **Hosoya**, **Ozawa** und **Tanaka** (796) an Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen, besonders aber an Hühnchen studiert. Durch Verwendung von unterneutralisiertem Toxin- und Antitoxin-Gemisch, sowie von nicht vollkommen neutralisiertem Formoltoxid wurde beim Tier eine Lähmung in 10 bis 25 Tagen, je nach der verwendeten Toxindosis erzielt. Ihre Ausdehnung ist ganz verschieden und kann sich bis zum Landryschen Symptomkomplex verstärken. Pathologisch-anatomisch sieht man dabei nur periphere Polyneuritis, aber keine zentralen Störungen des Nervensystems. Muskelveränderungen sind von sekundärer Natur. Die erste Lokalisation der Lähmung ist in der Umgebung der Injektionsstelle. Die Derotheraphie ist nur innerhalb der ersten zehn Stunden nach der Intoxikation wirksam, später ist sie ohne Bedeutung.

Wenn Lähmungen auftreten, ist öfter schon genügend Antitoxin im Blut vorhanden, das aber die Lähmung nicht zu verhindern vermag.

**S. Tamura** (808) konnte mit minimalen Dosen des Diphtherietoxins bei Küken Beinparesen erzeugen. Diese Lähmungen können durch Zufuhr von Olivenöl mit der Nahrung verhindert werden. Die wirksame Substanz des Öls befindet sich im ätherlöslichen (im Azeton unlöslichen) Anteil seiner unverseifbaren Substanz. Ihre optimale Dosis liegt beim Gehalt von ca. 1 % des unverseifbaren in der Nahrung. Mehr davon wirkt schon schädlich. Die Substanz ist noch wirksamer bei der parenteralen Applikation.

Eine neue Auffassung über die Frage der Pathogenese der diphtherischen Lähmungen hat **A. Beer** (791) geäußert. Er betont, daß die ganz frühzeitigen Lähmungen (in den 1.—2. Krankheitswochen) sich in der nächsten Umgebung des Krankheitsherdes lokalisieren. Sie sind also wahrscheinlich von einer ganz anderen Genese, als die Spätlähmungen.

Weiterhin fiel es ihm noch auf, daß bei den Spätlähmungen (in der 4.—5. Woche) ein langes Intervall zwischen dem Zeitpunkt der letzten Giftaufnahme und dem Einsetzen der Lähmung verstreicht. **Beer** erklärt dies wiederum (wie im Falle der Spätherzschäden bei Diphtherie — s. oben) durch Bildung von Toxin + Lipoid-Komplexantigenen im Nervengewebe. Diese Antigene sollen das Nervensystem zu gewissen Abwehrreaktionen zwingen, als deren Folgen die Lähmungen auftreten.

Der Angriffspunkt des Toxins soll im Ursprungsgebiet der peripheren motorischen Neuronen liegen. Die Veränderungen betreffen nicht die Ganglienzellen, sondern die Markscheiden der Nerven. Im Rückenmark soll es innerhalb umschriebener Herde zu zu der Entmyelinisierung kommen. Dabei entwickeln sich keine entzündlichen Reaktionen.

Diese Hypothese der Bildung eines sekundären Toxinlipoidgiftes ist bisher experimentell noch nicht genügend nachgeprüft.

## BIBLIOGRAPHIE

### Baustoffe und Wirkstoffe

#### 1. Allgemeines und N-haltige Körper


1. **v. Dzierskowski, S. and Rekowski.** Recherches sur la transformation des milieux nutritifs par les bacilles de la diphtérie et sur la composition chimique de ces microbes. Arch. Sci. biol. St. Petersbourg, 1, 167, 1892.
2. **Hirsch, J.** Ein Beitrag zur Chemie des Diphtheriebazillus. Z. Hyg. 112, 660, 1931.
3. **Nicolle, M. et Alilaire, E.** Note sur la production en grand des corps bactériens et sur leur composition chimique. Ann. Inst. Pasteur, 23, 547, 1909.
4. **Soehring, K.** Zur Frage der Darstellung von Eiweißsubstanzen aus Diphtheriebakterien. Klin. Wschr. 1939, 1093.
5. **Tamura, S.** Zur Chemie der Bakterien. III Mitt.: Über die chemische Zusammensetzung der Diphtheriebazillen. Hoppe Seiler Z. physiol. Chemie, 89, 289, 1913.
6. **Tamura, S.** Zur Chemie der Bakterien. IV Mitt.: Zur Kenntnis der in den Bakterien enthaltenen Kohlehydrate. Z. physiol. Chemie, 89, 304, 1913.


#### 2. Lipoide


7. **Aronson, H.** Zur Biologie und Chemie der Diphtheriebazillen. Arch. Kindhlk. 30, 23, 1900.
8. **v. Behring, H.** Enthalten Bakterien Sterine? Z. physiol. Chemie, 192, 112, 1930.
9. **Boquet, A. et Nègre, L.** Sur les propriétés antigènes des extraits alcoholo-méthyliques de bacilles de Koch et des lécithines. C. r. Soc. Biol. 86, 717, 1922.
10. **Cassagne, H.** Recherches biochimiques sur le bacille diphthérique. Etude de l'extraction, par l'acétone, de bacilles d'ages differents. C. r. Soc. Biol. 131, 693, 1939.
11. **Chargaff, E.** Zur Chemie der Bakterien. I Mitt.: Über die Lipoide der Diphtheriebakterien. Z. physiolog. Chemie, 201, 191, 1931.
12. **Chargaff, E.** Zur Chemie der Bakterien. V. Mitt.: Über das Phosphatid der Diphtheriebakterien. Z. physiolog. Chemie, 218, 223, 1933.
13. **Freund, J.** Alcohol soluble specific substances of Bacillus diphtheriae and of Streptothrix. J. of Immunol. 13, 161, 1927.
14. **Hoyle, L.** The lipoid antigens of C. diphtheriae and C. Hoffmannii. J. of Hygiene, 42, 416, 1942.
15. **Krah, E. und Witebski, E.** Studien über Diphtheriebazillen-Antikörper. Z. Immfschg. 66, 59, 1930.
16. **Krah, E. und Witebski, E.** Über komplementbindende Antikörper in antitoxischen Diphtheriesera. Z. Immfschg. 66, 78, 1930.
17. **Macheboeuf, M. et Cassagne, H.** C. r. Acad. Sci. 200, 1988, 1935.
18. **Mandelbaum.** Zur Frage der Differenzierung innerhalb der Corynebakteriengruppe, insbesondere zur Differenzierung zwischen Scharlach- und Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I, Referaten 89, 37, 1928.
19. **Nußbaum, E.** Über Lipoidantikörper gegenüber Diphtheriebazillenfett. Z. Hyg. 113, 305, 1932.
20. **Witebski, E. u. Krah, E.** Beiträge zur Kenntnis bakterieller Antigenfunktionen. Zbl. Bakt. I Orig. 110, 44, 1929.

### 3. Polysaccharide


21. **Boivin, A.** Virulence, structure antigénique et „equipement toxique" des Salmonellas. Rev. d'Immunol. 6, 273, 1940/41.
22. **Mikulaszek, E.** Bakterielle Polysaccharide. Erg. Hyg. 17, 451, 1935.
23. **Ottensooser, F.** Über die Gruppensubstanz A des Peptons und des Diphtherietoxins. Klin. Wschr. 1932, 1716.
24. **Wong, S. C. and Tung, T.** Polysaccharides of C. diphtheriae. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 39, 422, 1938.
25. **Wong S. C. and Tung, T.** Type-specific polysaccharides of C. diphtheriae. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 41, 160, 1939.
26. **Wong, S. C. and Tung, T.** Serological studies on polysaccharides derived from diphtheroids. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 40, 356, 1939.
27. **Wong, S. C. and Tung, T.** Immunological studies on the cellular constituents of C. diphtheriae. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 42, 824, 1939.
28. **Wong, S. C. and Tung, T.** Further studies on type-specific proteins Corynebacterium diphtheriae. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 43, 749, 1940.
29. **Wong, S. C. and Tung, T.** Further studies on polysaccharides of C. diphtheriae. China med. Journ. Suppl. III, 506, 1940.


### 3a. Serologische Beziehungen der Corynebakterien


30. **Bailey, G. H.** A study of the agglutination reactions of the diphtheria group of organisms. J. of Immunol. 10, 791, 1925.
31. **Bell, A. S. G.** The serological differentiation of some strains of bacillus diphtheriae. J. of the Royal Army Med. Corps, 38, 48, 1922.
32. **Bessemans, A., de Potter, F. et Decker, N.** La diphthérie et la réaction de fixation du complément. C. r. Soc. Biol. 97, 743, 1927
33. **Bull, C. G. and McKee, C. M.** The biological relationships of the diphtheria group of organism as shown by the complement fixation reaction. I. B. diphtheriae versus B. Hoffmannii. Amer. J. of Hyg. 4, 101, 1924.
34. **Doyle, D. G.** A further study of agglutination of B. diptheriae. J. of Immunol. 9, 443, 1924.
35. **Durand, P.** Classification des bacilles diphtériques par l'aggutination. C. r. Soc. Biol. 81, 1011, 1918.
36. **Durand, P.** Les types de bacilles diphthériques determinés par les épreuves d'agglutination et d'adsorption des agglutinines. C. r. Soc. Biol. 83, 613, 1920.
37. **Eagleton, A. J. and Baxter, E. M.** The serological classification of Bacillus diphtheriae. J. of Hyg. 22, 107, 1923.
38. **Etris, S.** Antigenic relation of gravis strains of diphtheria bacillus as compared with Park 8 strains. J. of inf. Dis. 55, 220, 1934.
39. **Ewing, J. O.** The serological grouping of the starch fermenting strains of C. diphtheriae. J. of Pathol. 37, 345, 1933.
40. **Hartley, P.** On the identy of the toxins produced by serological different strains of bac. diphtheriae. Lancet, 1923, 17.
41. **Havens, L. C.** Biologic studies of the diphtheria bacillus. J. of inf. Dis. 26, 388, 1920.
42. **Kolle, W. und Schloßberger, H.** Zur Frage der Heilwirkung des Diphtherieserums. Experimentelle Untersuchungen und kritische Betrachtungen. I Mitt.: Med. Klinik, 1919, 1.
43. **Id.** II Mitt.: Med. Klinik, 1919, 83
44. **Id.** III Mitt.: Med. Klinik, 1919, 553.
45. **Id.** IV Mitt.: Med. Klinik, 1919, 579.
46. **Kolle, W. und Schloßberger, H.** Experimentelle Studien mit Diphtherie-Antitoxinen an Mäusen. Arb. d. Inst. f. exp. Therapie Frankfurt a. M. 8, 3, 1919.

47. **Kolle, W., Joseph, K. und Schloßberger, H.** Untersuchungen über die Avidität der Diphtherie-Antitoxine und über die Polyvalenz der Diphtherie-Sera. Arb. d. Inst. f. exp. Therapie Frankfurt a. M. 8, 13, 1919.
48. **Langer, H.** Die Agglutination der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 78, 117, 1916.
49. **Menton, J., Cooper, T. V. and Fussel, W. H.** Complement fixation experiments on 200 strains of corynebacterium diphtheriae. Lancet, 1933, II, 180.
50. **Moehrke, W.** Kritische Bemerkungen zum Problem der Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen, sowie einige experimentelle Untersuchungen zu dieser Frage. Zbl. Bakt. I. Orig. 100, 145, 1926.
51. **Murray.** J. of Pathol. 41, 439, 1935.
52. **Neill, J. M., Richardson, L. Fleming, W. L., Sugg, J. Y. and Gaspari, E. L.** Anti-diphtheria group-agglutinin in the antisera of laboratory immunized animals. Amer. J. of Hyg. 13; 499, 1931.
53. **Nishimoto, G.** Immunisatorische Einteilung der Diphtheriebazillen. Z. Immfschg. 87, 414, 1936.
54. **Nishimoto, G.** Immunisatorische Beziehungen diphtheriebazillenähnlicher Mikroben aus Ozaena zu Diphtheriebazillen. Z. Immfschg. 87, 421, 1936.
55. **Nishimoto, G.** Die Beziehungen der agglutinatorischen Typen der Diphtheriebazillen zu ihrer Giftbildung. Z. Immfschg. 89, 48, 1936.
56. **Okell, C. C. and Parish, H. J.** The virulence testing of diphtheria bacillus and its practical application. J. of Hyg. 25, 355, 1926.
57. **Park, W. H., Williams, A. W. and Mann, A. G.** Immunological studies on types of diphtheria bacilli. I. Agglutination characteristics. II. Protective value of the standard monovalent antitoxin. J. of Immunol. 7, 243, 1922.
58. **Paxson, W. H. and Redwitz, E.** Bacillus diphtheriae. Immunological types; toxin-antitoxin relationship. J. of Immunol. 7, 69, 1922.
59. **Povitzky, O. R., Eisner, M. and Jackson, E.** Effectiveness of standard diphtheria antitoxin against all types of diphtheria infection. J. of inf. Dis. 52, 246, 1933.
60. **Powell, H. M.** A biological study of the diphtheria bacillus. III. The property of agglutination in pure-line strains derived from a common parent-cell. Am. J. of Hyg. 3, 362, 1923.
61. **Revelli, U.** Caratteri immunologici di stipiti isolati da malati di una stessa epidemia. Giorn. Batter. 10, 528, 1933.
62. **Robinson, D. T. and Peeney, A. L. P.** The serological types amongst gravis strains of C. diphtheriae and their distribution. J. of Pathol. 43, 403, 1936.
63. **Rosenau, M. J. and Bailey, G. H.** Diphtheria immunity. J. of inf. Dis. 37, 97, 1925.
64. **Schmidt, H.** Zur Kenntnis der Natur der Diphtherie-Toxin-Antitoxinflockung. Z. Immfschg. 48, 217, 1926.
65. **Scott, W. M.** Bacteriological studies: Agglutination reactions of diphtheria bacilli. Reports on Public Health, 22, 40, 1923.
66. **Sia, R. H. P. and Huang, C. H.** Serological classification of C. diphtheriae. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 41, 348, 1939.
67. **Smith, J.** A studie of diptheria bacilli, with special reference to their serological classification. J. of Hyg. 22, 1, 1923.
68. **Stein, C.** Untersuchungen über das Vorkommen und die etwaige Pathogenität der Corynebakterien, der gramfreien Rachenkokken und der Streptokokken in Rachenabstrichen von 1750 Schulkindern. Zbl. Bakt. I. Orig. 130, 419, 1933/34.
69. **Stone, R. L.** Fixation reactions with types of B. diphtheriae. J. of inf. Dis. 34, 312, 1924.
70. **Tarnowski, C.** The type-classification of Park-Williams strain No. 8. Acta pathol. et microbiol. scandin. 19, 300, 1942.
71. **Ugo, A.** Sul dosaggio delle antitossine difteriche del commercio con tossine difteriche di varia origine. Boll. Ist. sieroterap. milan. 16, 16, 1937.

72. **Clauberg, K. W.** Zur Frage der Unterschiedlichkeit der Diphtheriebazillen-Typtoxine. Klin. Wschr. 1939, 1490.
73. **Isiyama, G.** Beiträge zur Forschung über Diphtherietoxine aus verschiedenen Bazillentypen. J. of orient. Med. 28, 78, 1938.

**4. Porphyrine und Flavine**

74. **Crowe, M.** The fluorescence spectrum of a pigment elaborated by the diphtheria bacillus. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 37, 215, 1937.
75. **Crowe, M.** Fluorescence and absorption spectra of flavin isolated from a toxic culture filtrate of C. diphtheriae. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 42, 212, 1939.
76. **Coulter, C. B. and Stone, F. M.** The occurence of phorphyrins in cultures of C. diphtheriae. J. general Physiol. 14, 538, 1931.
77. **Coulter, C. B. and Stone, F. M.** The cytochrom of diphtheria bacilli and its relation to diphtheria toxin. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 27, 715, 1930.
78. **Coulter, C. B. and Stone, F. M.** J. gen. Physiol. 15, 629, 1932.
79. **Coulter, C. B. and Stone, F. M.** Identification of the porphyrin compound found in cultures of C. diphtheriae and mycobacteria. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 38, 423, 1938.
80. **Dhéré, Ch., Meunier, P. et Castelli, V.** Sur la determination, par l'analyse spéctrale, de la fluorescence du bouillon-toxine et de l'anatoxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 127, 564, 1938.
81. **Dhéré, Ch. et Castelli, V.** Relations entre les spectres d'absorption et de fluorescence du bouillon-toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 127, 1050, 1938.
82. **Dhéré, Ch. et Gourevitch, A.** Sur la teneur en flavine du bouillon-toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 130, 593, 1939.
83. **Levaditi, C., Loiseau, G., Paic, M., Philippe, M. et Haber.** Etude de la toxine diphtérique par le spectre d'absorption. Presse médic. 1934, 1075.
84. **Ottensooser, F., Krupski, A. und Almasy, F.** Über das Spektrum des Diphtherietoxins. Biochem. Z. 277, 314, 1935.
85. **Paic, M.** Sur la porphyrine du bouillon-toxine diphtérique. Ann. Inst. Pasteur 59, 197, 1937.
86. **Paic, M.** C. r. Ac. Sciences 204, 298, 1937.
87. **Paic, M. et Philippe, M.** Sur un pigment elaboré par le bazille diphtérique. C. r. Ac. Sciences. 200, 173, 1935.
88. **Urban, F. and Eaton, M. D.** Nature (London), 140, 466, 1937.
89. **Wadsworth, A., Crowe, M., Smith, L. A.** The spectroscopic investigations of bacterial toxins; the absorption spectra of the products of C. diphtheriae. Brit. J. exp. Pathol. 16, 201, 1935.
90. **Wheeler, M. and Crowe, M.** A note on conditions affecting the production of toxin and porphyrins by the diphtheria bacillus. J. Bacter. 31, 519, 1936.

**5. Nukleinsäuren und Polkörnchen**

91. **Caspersson, Th.** Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkerns. Skand. Arch. Physiol. 73, Suppl. 8, 1936.
92. **Coghill, R. D. e Barnés, D.** Anales Soc. Espanola Fisica Quimica, 30, 208, 1932.
93. **Dold, H.** Ein neues färberisches Einteilungsprinzip für Bakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 124, 220, 1932.
94. **Dold, H.** Über das Verhalten der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien gegenüber meiner Differentialfärbung und über neuartige, bisher unbekannte Granula. Zbl. Bakt. I. Orig. 128, 265, 1933.

95. **Dold, H.** Zum färberischen Verhalten der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 135, 55*, 1935.
96. **Dold, H. und Du, D. H.** Die Bedingungen für das Auftreten der Harnstoff-Alkohol-festen Granula (sog. Dold-Granula) in Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillenkulturen. Zbl. Bakt. I. Orig. 134, 439, 1935.
97. **Dold, H. und Du, D. H.** Über das Vorkommen Säure-Alkohol-fester Formelemente in Diphtheriebazillenkulturen. Zbl. Bakt. I. Orig. 134, 445, 1935.
98. **Henke, R. J.** Untersuchungen über die Bakterien-Differentialfärbung nach Dold. Zbl. Bakt. I. Orig. 148, 132, 1942.
99. **Kraft, K.** Über das Vorkommen der von Dold beschriebenen Granula in Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 130, 60, 1933/34.
100. **Lentze, F. A.** Wachstumsfördernde Wirkung von Schwefelwasserstoff auf Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 118, 51, 1930.
101. **Lorentz, F.** Der Charakter der Diphtheriebazillenkörnchen. Zbl. Bakt. I. Orig. 120, 331, 1930.
102. **Negelein, E.** Über die Wirkung des Schwefelwasserstoffs auf chemische Vorgänge in Zellen. Biochem. Z. 165, 203, 1925.
103. **Pesch, K.** Über Natur und Bildung der Diphtherie-Polkörnchen. Zbl. Bakt. I. Orig. 92, 208, 1924.
104. **Rabe, F.** Weitere Untersuchungen über das Vorkommen der Dold-Granula in Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 132, 167, 1934.
105. **Schumacher, J.** Welche chemische Substanz baut die Polkörnchen des Diphtheriebazillus auf? Zbl. Bakt. I. Orig. 88, 362, 1922.

## PHYSIOLOGISCHE GRUNDLEISTUNGEN

### 1. Verwendungsstoffwechsel und Wuchsstoffe

106. **Banguess, L. C.** The influence of optical activity on the utilization of tryptophane for growth by the diphtheria bacillus. J. Bacter. 32, 299, 1936.
107. **Braun, H. und Hofmeier, K.** Über den Verwendungsstoffwechsel der Diphtheriebakterien. Klin. Wschr. 1927, 699.
108. **Braun, H. und Muendel, F.** Zur Ernährungsphysiologie der Diphtheriebazillen I. Die Nahrungsbedürfnisse der Diphtheriebazillen in synthetischen Medien in quantitativer Hinsicht. Zbl. Bakt. I. Orig. 112, 347, 1929.
109. **Braun, H. und Hofmeier, K.** Zur Ernährungsphysiologie der Diphtheriebazillen. II. Die Nahrungsbedürfnisse der Diphtheriebazillen in synthetischen Nährböden in qualitativer Hinsicht. Zbl. Bakt. I. Orig. 113, 530, 1929.
110. **Braun, H.** Zur Assimilation und Dissimilation bei Bakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 122, 26*, 1931.
111. **Braun, H. und Muendel, F.** Über die Bedeutung des Zystins für die Züchtung der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 103, 182, 1927.
112. **Braun, H.** Über den Bedarf der anspruchslosen Stämme von Diphtheriebazillen an S, Mg- und Fe-Verbindungen. Schweiz. Z. allg. Path. u. Bakt. 1, 113, 1938.
113. **Buesing, K. H.** Über die Bedeutung der Redoxkatalysatoren für Bakterien und Bakterienenzyme unter besonderer Berücksichtigung der bakteriellen Anaerobiose. Weichhardt's Erg. Hyg. 25, 93, 1943.
114. **Burton, H., MacLeod, J. W. a. T. S., Mayr-Harting, A.** Brit. J. exp. Pathol. 21, 288, 1940.

115. **Chattaway, F. W., Happold, F. C., Lythgoe, B., Sandford, M. and Todd, A. R.** Biochem. J. 36, No. 5/6, 1942.

116. **Chattaway, F. W., Happold, F. C., Lythgoe, B., Sandford, M. and Todd, A. R.** Nutritional requirements of C. diphtheriae and Lactobacillus casei. Nature (London), 151, 559, 1943.

117. **Chattaway, F. W., Happold, F. C., Sandford, M.** Biochem. J. 37, No. 4, 1943.

118. **Cohen, S. and Mueller, J. H.** Oleic acid in colony development of C. diphtheriae. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 45, 244, 1940.

119. **Cohen, S., Snyder, J. C. and Mueller, J. H.** Factors concerned in the growth of C. diphtheriae from minute inocula. J. Bacter. 41, 581, 1941.

120. **Du Vignaud, V., Dittmer, K., Hague, E. and Long, B.** Science (New York), 96, 186, 1942.

121. **Ehrismann, O.** Über anaerobes Wachstum in synthetischen Nährlösungen. Zbl. Bakt. I. Orig. 140, 273*, 1937.

122. **Ehrismann, O.** Über das Verhalten aerober und anaerober Bakterien gegenüber Ascorbinsäure. Z. Hyg. 123, 16, 1940.

123. **Evans, W. C., Handley, W. R. C. and Happold, F. C.** The nutrition of C. diphtheriae. Pantothenic acid as an essential growth factor for certain strains of C. diphtheriae gravis; the synthesis of some physiologically active compounds by C. diphtheriae cultures in synthetic media. Brit. J. exp. Pathol. 20, 396, 1939.

124. **Fischer, F. G. und Eysenbach, H.** Biochemische Hydrierungen. VI. Eine neuartige enzymatische Hydrierung der Fumarsäure. Liebigs ANN. d. Chemie. 530, 99, 1937.

125. **Franke, F.** Zum biologischen Ab- und Aufbau der Aminosäuren. Angew. Chemie, 52, 695 und 703, 1939.

126. **Franke, F.** Neuere Erkenntnisse über den Mechanismus der Atmung und Gärung (Desmolyse). Angew. Chemie, 53, 580, 1940.

127. **Gordon, J. and Knox, J. C.** The bactericidal properties of adrenal extracts. J. Bacter. 38, 493, 1934.

128. **Glass, V.** The effect of blood treated by heat, acid or alkali on the growth of C. diphtheriae. J. of Pathol. 48, 507, 1939.

129. **Glass, V.** The effect of blood digest and haem on the growth of C. diphtheriae. J. of Pathol. 49, 549, 1939.

130. **Harmsen und Siegler.** Zur Behandlung der malignen Diphtherie, insbesondere der Fleckfieberdiphtherie, mit Sulfonamiden. Dtsch. med. Wschr. 1944, 27.

131. **Hettche, H. O.** Die Wirkung der Fettsäuresalze auf Erythrozyten und Bakterien. Z. Immfschg. 83, 506, 1934.

132. **Hettche, H. O.** Untersuchungen über die Natur der bakteriziden und haemolitischen Bestandteile der Pyocyaneuslipoide. II. Mitt. Z. Immfschg. 83, 499, 1934.

133. **Hettche, H. O. und Weber, B.** Die Ursache der bakteriziden Wirkung von Mesentericusfiltraten. Arch. Hyg. 123, 69, 1939.

134. **Hoelzle, H.** Weitere Untersuchungen über die antagonistische Wirkung der Mundstreptokokken auf Diphtheriebazillen. Z. Hyg. 123, 500, 1942.

134a. **Hompesch, M.** Über die Wirkung von Sulfonamiden auf die Diphtheriebazillen. Z.Immfschg. 104, 56, 1943.

135. **Hottinger, A. und G.** Untersuchungen über den Stoffwechsel der Diphtheriebazillen in synthetischen Nährböden. Z. Kindhlk. 54, 440, 1933.

136. **Kuhn, R.** Vitamine und Arzneimittel. Die Chemie, 55, 1, 1942.

137. **Larson, W. P.** The role of the fatty acid compounds of the phagocytes in neutralizing bacterial toxins. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 27, 963, 1930.

138. **Lieb, F. und Reichelt, W.** Über Aminosäurestoffwechsel von Staphylokokken, Diphtheriebazillen und gramnegativen Schleimbildnern. Zbl. Bakt. I. Orig. 142, 64, 1938.

139. **Lynen, F.** Die Rolle der Phosphorsäure bei Dehydrierungsvorgängen und ihre biologische Bedeutung. Naturwissenschaften, 30, 398, 1942.

140. **Mueller, J. H., Kliss, K. S., Porter, E. F. and Graybiel, A.** Studies on cultural requirements of bacteria. III. The diphtheria bacillus. J. Bacter. 25, 509, 1933.

141. **Mueller, J. H.** Aminoacids required by the diphtheria bacillus. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 32, 318, 1934.

142. **Mueller, J. H.** Studies on cultural requirements of bacteria. V. The diphtheria bacillus. J. Bacter. 29, 515, 1935.

143. **Mueller, J. H.** Studies on cultural requirements of bacteria. VIII. Utilization of glutamic acid by the diphtheria bacillus. J. Bacter. 32, 207, 1936.

144. **Mueller, J. H.** Studies on cultural requirements of bacteria. VI. The diphtheria bacillus. J. Bacter. 30, 513, 1935.

145. **Mueller, J. H.** Studies on cultural requirements of bacteria. VII. Aminoacids requirements for the Park-Williams No. 8 strain of diphtheria. J. Bacter. 30, 525, 1935.

146. **Mueller, J. H. and Subbarow, Y.** Studies on cultural requirements of bacteria. IX. Tissue extractives in the growth of the diphtheria bacillus. J. Bacter. 34, 153, 1937.

147. **Mueller, J. H.** Studies on cultural requirements of bacteria. X. Pimelic acid as a growth stimulant for C. diphtheriae. J. Bacter. 34, 163, 1937.

148. **Mueller, J. H. and Cohen, S.** Beta alanine as a growth accessory factor for the diphtheria bacillus. J. Bacter. 34, 381, 1937.

149. **Mueller, J. H.** Nicotinic acid as a growth accessory substance for the diphtheria bacillus. J. Bacter. 34, 429, 1937.

150. **Mueller, J. H.** J. of biol. Chem. 120, 219, 1937.

151. **Mueller, J. H.** J. of biol. Chem. 123, 421, 1938.

152. **Mueller, J. H.** A synthetic medium for the cultivation of C. diphtheriae. J. Bacter. 36, 499, 1938.

153. **Mueller, J. H.** An unidentified growth factor for certain strains of the diphtheria bacillus. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 40, 632, 1939.

154. **Mueller, J. H. and Klotz, A. W.** J. of Amer. chem. Soc. 60, 3086, 1938.

155. **Nitti, F., Philippe, M. et Bovet, D.** Action retardante de certains derivés organique du soufre sur le developpement du bacille diphtérique. Phénomènes d'accoutumance. C. r. Soc. Biol. 131, 70, 1939.

156. **Nitsch, J.** Beitrag zum Studium des Verwendungsstoffwechsels der Diphtheriebazillen in synthetischen Nährböden (nach Braun). Z. Kinderhlk. 54, 470, 1933.

157. **Rouslacroix, A., Schafer, E. et Moser, H.** Action de la sulphamide sur la toxi-infection diphthérique du cobaye et sur les bacilles diphthériques en culture. C. r. Soc. Biol. 133, 146, 1940.

158. **Schmidt, H.** Zur Ernährungsphysiologie der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 130, 391, 1933/34.

159. **Stickl, O. und Gaertner, K.** Die Wirkungsweise der Sulfonamide und ihre chemotherapeutische Anwendung bei Ruhr. Z. Hyg. 125, 226, 1943.

160. **Tietz, C. J.** Aussprache auf der 16. Tagung der Deutsch. Vereinig. f. Mikrobiologie in Berlin 1935. Zbl. Bakt. I. Orig. 135, 91*, 1935.

161. **Wagner, W.** Untersuchungen der bakteriziden Bestandteile des B. pyocyaneus. Z. Immunfschg. 63, 483, 1929.

162. **Weiland, P.** Untersuchungen über die bakterizide Wirkung von Mesentericusfiltraten gegenüber Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 147, 321, 1941.

163. **Wieland, Th.** Desaminierung, Umaminierung und Aminierung. Die Chemie, 55, 147, 1942.

164. **Beck, A.** Der Einfluß der Anärobiose und verschiedener Gase auf das Wachstum und die Virulenz der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 130, 287, 1933/34.

165. **Braun, H. und Guggenheim, K.** Über Atmungstypen bei fakultativ anäroben pathogenen Bakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 127, 97*, 1932.

166. **Dahr, P.** Kultur von Diphtherie- und anderen Korynebakterien in Kohlensäuregas. Klin. Wschr. 1934, 446.

167. **Ehrismann, O.** Über Sauerstoffverbrauch und Nitratreduktion von Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 127, 111*, 1932.

168. **Ehrismann, O.** Über die Atmung der Diphtheriebazillen. Z. Hyg. 115, 273, 1933.

169. **Ehrismann, O.** Pyocyanin und Bakterienatmung. Z. Hyg. 116, 209, 1935.

170. **Ehrismann, O.** Über die reduzierenden Wirkungen der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 135, 56*, 1935.

171. **Fujita, A. und Kodama, T.** Untersuchungen über Atmung und Gärung pathogener Bakterien. I. Mitt. Bestimmung des Stoffwechselquotienten pathogener Bakterien. Biochem. Z. 269, 367, 1934.

172. **Fujita, A. und Kodama, T.** Untersuchungen über Atmung und Gärung pathogener Bakterien. II. Mitt. Über Atmung und Gärung von B. diphtheriae. Biochem. Z. 271, 185, 1934.

173. **Fujita, A. und Kodama, T.** Untersuchungen über Atmung und Gärung pathogener Bakterien. III. Mitt. Über Cytochrom und das sauerstoffübertragende Ferment sowie die Atmungshemmung der pathogenen Bakterien durch CO und HCN. Biochem. Z. 273, 186, 1934.

174. **Gloger, R.** Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene. Zbl. Bakt. I. Orig. 40, 584, 1906.

175. **Gosio, B.** Indicatoren des Bakterienlebens und ihre praktische Bedeutung. Z. Hyg. 51, 65, 1905.

176. **Hewitt, L. F.** Oxidation-reduction potentials of cultures of C. diphtheriae. Biochem. J. 24, 669, 1930.

177. **Klett, A.** Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien. Z. Hyg. 33, 137, 1900.

178. **Kollath, W.** Redox-Potentiale, Zellstoffwechsel und Krankheitsforschung. Erg. Hyg. 21, 284, 1938.

179. **Morton, H. E. and Anderson, F.** Electron microscopic studies of biological reactions. I. Reduction of potassium tellurite by C. diphtheriae. Proc. Soc.; exp. Biol. & Med. 46, 272, 1941.

180. **Plastridge, W. N. and Rettger, L. F.** Studies on carbon dioxide. IV. The influence of gaseous environment on growth and toxin production of C. diphtheriae. J. Bacter. 18, 1, 1929.

181. **Schneider, B.** Versuche über den Einfluß wechselnder Lebensbedingungen auf die morphologische und biologische Veränderlichkeit von Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 121, 213, 1931.

182. **Shapiro, S. L.** Types of C. diphtheriae. II. Respiration of various types of the diphtheria bacillus. Bull. biol. et Med. exp. de l'URSS, 7, 127, 1939.

183. **Schroeder, R.** Sur la technique de fermentation des bactéries corynéiformes C. r. Soc. Biol. 104, 1347, 1930.

184. **Silberstein, F. und Rappaport, F.** Untersuchungen des Gasstoffwechsels der Diphtheriebazillen und Diphtheroiden. Wien. med.; Wschr. 1929, 460.

185. **Tarnowski, G. und Rüßbült I.** Zur Frage der oxydoreduktiven Leistungen der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien in vitro. Z. Hyg. 125, 123, 1943.

3. Kohlehydratvergärung

186. **Anderson, J. S., Happold, F. C., MacLeod, J. W. and Thompson, J. G.** On the existence of the two forms of diphtheria bacillus-B. diphtheriae gravis and B. diphtheriae mitis—and a new medium for their differentiation and for the bacteriological diagnosis of diphtheria. J. of. Pathol. 34, 667, 1931.

187. **Anderson, J. S., Cooper, K. E., Happold, F. C. and MacLeod, J. W.** Starch fermentation by the „gravis" type of diphtheria. Lancet, 1933, I, 293.

188. **Anderson, J. S., Cooper, K. E., Happold, F. C. and MacLeod, J. W.** Incidence and correlation with clinical severity of gravis, mitis and intermedius types of diphtheria bacillus in a series of 500 cases at Leeds. J. of Pathol. 36, 169, 1933.

189. **Bingel, K.** Einflüsse der Reaktionslage im Wirtsorganismus auf den Typ des Diphtheriebacteriums. Z. Hyg. 124, 164, 1942.

190. **Birch-Hirschfeld, L.** Wachstum, Stoffumsatz und Toxinbildung in zuckerreichen Schüttelkulturen von Diphtheriebakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 140, 241*, 1937.

191. **Bitter, L., Gundel, M. und Garcia Sancho, T.** Über Lebensäußerungen von Corynebakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 97, 132, 1926.

192. **Böhncke, K. E.** Die Beziehungen zwischen Zuckergehalt des Nährbodens und Stickstoffumsatz bei Bakterien. Arch. Hyg. 74, 81, 1911.

193. **Bohr, J.** Diphtherieuntersuchungen in einem Kinderheim. Z. Hyg. 121, 489, 1939.

194. **Brückner, M.** Beitrag zur bakteriologischen Diphtheriediagnose. Z. Hyg. 116, 361, 1934.

195. **Burtscher, J.** Zur bakteriologischen Diphtheriediagnose. Klin. Wschr. 1943, 367.

196. **Di Chiara, F.** Boll. Sez. ital. Soc. int. Mikrobiol. 11, 205, 1939.

197. **Christisen, M. H., Wright, H. A. and Shearer, B.** A note on diphtheria carriers with reference to types of C. diphtheriae. J. of Pathol. 42, 345, 1936.

198. **Dold, H.** Die Inhibition (Keimvermehrungshemmung) als Abwehrmittel der normalen Schleimhaut gegen Infektion. Z. Hyg. 124, 597, 1943.

199. **Durand, P.** Action des bacilles diphthériques sur les hydrates de carbone. C. r. Soc. Biol. 84, 982, 1921.

200. **Engering, P.** Zur bakteriologischen Differenzierung der Diphtheriebazillen von den diphtherieähnlichen Stäbchen. Zbl. Bakt. I. Orig. 89, 120, 1923.

201. **Erzin, N.** Untersuchungen über die Variabilität der Typen des Diphtheriebacillus. Zbl. Bakt. I. Orig. 137, 97, 1936.

202. **Ghio, A.** Contributo alla diagnosi differenziale tra il bacillo di Klebs-Loeffler e il bacillo di Hoffmann. Poloclinica, Sez. Prat. 38, 529, 1931.

203. **Groß, W. O.** Lassen sich bei der praktischen bakteriologischen Diphtheriediagnostik die Dextrose vergärenden Pseudodipheriebakterien von den positiven Fällen abgrenzen? Zbl. Bakt. I. Orig. 149, 348, 1943.

204. **Großmann, H.** Untersuchungen über Abgrenzbarkeit, Vorkommen und Veränderlichkeit der Diphtheriebazillentypen. Zbl. Bakt. I. Orig. 144, 471, 1939.

205. **Hammerschmidt, J.** Über Gruppenbildung bei den Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 93, 451, 1924.

206. **Henneberg, G. und Pels Leusden, F.** Beitrag zur Typenlehre der Diphtheriebakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 139, 39, 1937.

207. **Hettche, H. O.** Erfahrungen mit dem Clauberg-Nährboden und die Typendifferenzierung der Diphtheriebazillen. Klin. Wschr. 1935, 88.

208. **Hettche, H. O.** Die Typen der Diphtheriebakterien. Z. Hyg. 117, 33, 1936.

209. **Hohn, J.** Zur Frage der Methode der Typenbestimmung bei Diphtheriebazillen. (Die Typen Mitis und Intermedius vermögen Stärke anzugreifen.) Zbl. Bakt. I. Orig. 147, 289, 1941.

210. **Hohn, J.** Die Methoden der Typenbestimmung bei Diphtheriebacillen. Z. Hyg. 121, 334, 1941.

211. **Hohn, J.** Trypsin-Pepton aus Stierhoden ein voller Ersatz für die Hottinger-Stammbrühe aus Stierhoden in der Diagnostik der Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe. Zbl. Bakt. I. Orig. 146, 221, 1941.

212. **Hohn, J.** Ergänzungen zu der Arbeit: Wasserblau als Indikator zur Typenbestimmung der Diphtheriebazillen. Z. Hyg. 121, 732, 1941.

213. **Hompesch, H.** Über den Kohlehydrat-Stoffwechsel der Diphtheriebazillen. I. Mitt. Vergleichende Untersuchungen über die Säurespaltungen von Kohlehydraten in Peptonlösung durch die Typen des Diphtheriebazillus. Zbl. Bakt. I. Orig. 149, 257, 1942.

214. **Hompesch, H.** Über den Kohlehydrat-Stoffwechsel der Diphtheriebazillen. II. Mitt. Untersuchungen über den Einfluß des stickstoffhaltigen Nährsubstrats auf die Säurespaltung von Glukose, Stärke und Saccharose durch die Typen des Diphtheriebazillus. Zbl. Bakt. I. Orig. 151, 122, 1944.

215. **Jacobsen, K. A.** Säure- und Alkalibildung der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 57, 16, 1911.

216. **Kalies, W.** Über Wunddiphtherie. Z. Hyg. 125, 364, 1943.

217. **Kliewe, H.** Variabilitätsstudien und Gruppeneinteilung bei Diphtheriebazillen und anderen Corynebakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 101, 6 und 44, 1927.

218. **Knapp, A.** The differentiation of B. diphtheriae, B. xerosis, and B. pseudodiphtheriae by fermentation tests in the serum-water medium of Hiss. J. of. Med. Res. VII, 1904.

219. **Leibowitz, J. and Avinari-Shapiro, Sh.** Glycolysis, hydrolysis and phosphorolysis in C. diphtheriae. Nature (London) 147, 745, 1941.

220. **Leinbrock, A.** Zur Diphtheriebakterien-Typendifferenzierung. Z. Hyg. 123, 627, 1940/42.

221. **Lubenau, C.** Zur Säurebildung der Diphtheriebazillen. Arch. Hyg. 66, 305, 1908.

222. **Mannsheim, E.** Versuche über Differenzierung und Züchtung von Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 115, 113, 1930.

223. **Martelli, T.** Contributo alla classificazione del corinebatterio della difterite secondo i tipi di Anderson. Ann. Igiene, 51, 561, 1941.

224. **Martin, L.** Production de la toxine diphthérique. Ann. Inst. Pasteur, 1898, 26.

225. **Mittag, G.** Über den Nachweis von Diphtheriekolonien mit herabgesetztem Tellurspaltungsvermögen auf einer Tellurkochblutplatte mit Zystinzusatz. Zbl. Bakt. I. Orig. 138, 426, 1937.

226. **Murray, J. F.** A note on the stability of the gravis, mitis, intermedius types of C. diphtheriae. Brit. J. exp. Pathol. 16, 532, 1935.

227. **Neißer, M.** Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. Z. Hyg. 24, 443, 1897.

228. **Perry, C. A., Whitley, O. R. and Petran, E.** Types of C. diphtheriae in Maryland. Amer. J. of Hygiene, 23, 580, 1936.

229. **Pesch, K.** Über experimentell erzeugte Wunddiphtherie. (Gleichzeitig ein Beitrag zur Variabilitätsfrage der Corynebakterien.) Zbl. Bakt. I. Orig. 93, 261*, 1924.

230. **Pesch, K.** Untersuchungen zur Einteilung der diphtheroiden Bakterien. Zbl. Bakt. I. Orig. 92, 34, 1924.

231. **Preuner, R.** Diphtheriestudien. I. Mitt. Zbl. Bakt. I. Orig. 136, 463, 1936.

232. **Preuner, R.** Diphtheriestudien. II. Mitt. Zbl. Bakt. I. Orig. 137, 112, 1936.

233. **Preuner, R.** Diphtheriestudien. III. Mitt. Zbl. Bakt. I. Orig. 138, 431, 1937.

234. **Preuß, R.** Eine neue säureanzeigende Reaktion auf Dextrose-Ascitesagar zur Unterscheidung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen. (Mit Berücksichtigung der Typendifferenzierung des Diphtheriebacillus.) Zbl. Bakt. I. Orig. 137, 105, 1936.

235. **v. Riemsdijk, M.** Über die bakteriologische Diphtheriediagnose und die große Rolle, welche Bacillus Hoffmanni dabei spielt. Zbl. Bakt. I. Orig. 75, 237, 1915.

236. **Robinson, D. T.** Further investigations on the gravis, mitis and „intermedius" types of C. diphtheriae. Type stability. J. of Pathol. 39, 551, 1934.

237.

238. **Rothe.** Beitrag zur Differenzierung der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 44, 618, 1907.

239. **Schlirf, K.** Über die bakteriologische Diphtheriediagnose. Zbl. Bakt. I. Orig. 142, 1 und 14, 1938.

240. **Schlirf, K.** Zur Frage der Methode der Typenbestimmung bei Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 148, 289, 1942.

241. **Schlirf, K.** Zur Diphtheriebazillendifferenzierung. Zbl. Bakt. I. Orig. 146, 225, 1941.

242. **Smith-Graham, G. J.** The action of diphtheria—and diphtheria-like bacilli on various sugars and carbohydrates. J. of Hyg. VI, 286, 1906.

243. **Sugg, J. Y., Fleming, W. L. and Neil, J. M.** Studies on bacterial enzymes. VI. The maltase of diphtheria bacillus. J. exp. Med. 46, 909, 1927.

244. **Tarnowski G. und Rüßbült, I.** Zur Kenntnis der zuckerspaltenden Fermente bei den Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien. I. Stärkespaltung der verschiedenen Diphtherietypen. Zbl. Bakt. I. Orig. 150, 247, 1943.

245. **Tarnowski, G. und Rüßbült, I.** Zur Kenntnis der zuckerspaltenden Fermente bei den Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien. II. Dextrosespaltung und Säurebildung. Zbl. Bakt. I. Orig. 150, 254, 1943.

246. **Tasman, A. and Brandwijk, A. C.** Experiments on metabolism with Diphtheria bacillus. J. of inf. Dis. 63, 10, 1938.

247. **Warnecke, B.** Studien über Diphtherienährböden und Diphtherietypen. Z. Hyg. 122, 199, 1940.

248. **Weigmann, F. und Köhn, A.** Weitere Untersuchungen über die Wirkung des menschlichen Speichels auf Diphtheriebazillen. II. Mitt. Die Umwandlung der Diphtheriebazillentypen unter der Einwirkung des menschlichen Speichels. Z. Hyg. 118, 516, 1936.

249. **Whitley, O. R.** A Study of corynebacterium diphtheriae and related organism in Maryland. J. Lab. and clin. Med. 20, 1024, 1935.

**4. Urease bei den Corynebakterien**

250. **Kleinsorgen, W. und Commichau, F.** Diphtherie-Pseudodiphtherie-Differentialdiagnose durch Nachweis der Ureasereaktion auf einer Harnstoff-Indikatorplatte. Zbl. Bakt. I. Orig. 139, 57, 1937.

251. **Merkel, H. H.** Über das Verhalten der Diphtheriebazillen und der diphtherieähnlichen Bazillen gegenüber Harnstoff. Zbl. Bakt. I. Orig. 147, 398, 1941.

252. **Püschel, J.** Harnstoffzersetzung als Unterscheidungsmerkmal zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien. Klin. Wschr. 1936, 375.

253. **Wohlfeil, T. und Weiland, P.** Untersuchungen über die praktische Bedeutung und Wirkungsgröße der Bakterienurease. Zbl. Bakt. I. Orig. 138, 388, 1937.

254. **Bordet, P.** Facteurs de croissance et toxinogénèse. Ann. Inst. Pasteur 61, 618, 1938.

255. **Eaton, M. D.** Recent chemical investigations of bacterial toxins. Bacteriological Reviews, 2, 13, 1938.

256. **Loiseau, G. et Philippe, M.** Production de la toxine diphthérique. Milieu de culture. Souche toxigène. (Institut Pasteur 1904—1938.) Ann. Inst. Pasteur, 61, 790, 1938; 62, 469, 1938.

257. **Ramon, G.** La production des toxines diphthérique, tétanique et staphylococcique en vue d'obtention des anatoxines correspondantes. Revue d'Immunol. 5, 385, 1939.

258. **Schmidt, H.** Grundlagen der spezifischen Therapie, Berlin, 1940. B. Schulz, Verlag.

259. **Strøm, A.** The production of diphtheria toxin, Oslo, 1935.

260. **Wagner-Jauregg, T.** Die chemische Erforschung bakterieller Toxine. Angewandte Chemie, 52, 389, 1939.

261. **Wadsworth, A.** The action of bacterial toxins. J. of. Immunol. 26, 81, 1934.

**1. Toxinbildung in vitro**

262. **Ando, K. and Komiyama, T.** Diphtherie toxin produced on semi-synthetic medium. J. of. Immunol. 28, 345, 1935.

263. **Annok, I. und Buchgraber, J.** Einfluß der Vitamine auf die Vermehrung und Toxinerzeugung der Diphtheriebazillen. Magyar Orvosi Archivum, 34, 220, 1933.

264. **d'Antona, D.** La production de la toxine diphthérique d'après les modifications apportées par G. Ramon à la préparation du bouillon de culture. C. r. Soc. Biol. 103, 203, 1930.

265. **Berta, A. et Garcia, C. L.** Préparation de la toxine diphthérique par la méthode de Pope et Smith. Influence de la concentration de l'azote aminé sur la production de la toxine. C. r. Soc. Biol. 113, 1290, 1933.

266. **Bordet, P.** Influence favorisante de la levure sur l'utilisation des glucides et la toxinogénèse par le bacille diphthérique. C. r. Soc. Biol. 125, 1044, 1937.

267. **Bunney, W. E. and Thomas, L. E.** Diphtheria toxin-production on broths made from dried complete media. J. of Immunol. 31, 95, 1936.

268. **Frank, M.** Über den Einfluß von Nährböden mit verschiedenem Serumzusatz auf die Toxinbildung des Diphtheriebacillus. Jahrbuch d. Kindhlk. 139, 44, 1933.

269. **Hazen, E. L. and Heller, G.** Further studies upon the effect of various carbohydrates on production of diphtheria toxin with special reference to its flocculating titer and final pH. J. Bacter. 23, 192, 1932.

270. **Heeren, R. H.** Relation of pellicle formation and toxicogenicity in diphtheria cultures. J. inf. Dis. 46, 161, 1930.

271. **Hettche, H. O. und Becker, M.** Der Einfluß der Metalle auf die Toxinbildung der Diphtheriebakterien. Z. Immunfschg. 96, 440, 1939.

272. **Hida, O. and Suzuki, S.** Biological and chemical analysis of the diphtheria toxin production in media. Kitasato Arch. of exp. Med. 14, 263, 1937.

273. **Hosoya, S., Ozawa, E. and Tanaka, T.** Study on the production of diphtheria toxin. Especially of the significance of cysteine and cystine and on the production of a fairly potent toxin in the biuret-free medium. J. exp. Med. 11, 463, 1933.

274. **Kligler, I. J., Leibowitz, L. and Berman, M.** The effect of ascorbic acid (vitamin C) on toxin production by C. diphtheriae in culture media. J. of Pathol. 45, 415, 1937.

275. **Komis, A.** Über die Vermehrung der toxinogenen Eigenschaften der Bazillen und ihrer Toxine mittels schwacher Gärung. Zbl. Bakt. I. Orig. 115, 454, 1930.

276. **Leulier, A. et Sédaillan, P.** Sur l'affinité du bacille diphthérique pour le cuivre. C. r. Acad. Sciences, 191, 231, 1930.

277. **Leulier, A., Sédaillan, P. et Fink, A.** Sur la composition chimique du bacille diphthérique. C. r. Soc. Biol. 107, 1135, 1931.
278. **Lindemann, H.** Das Problem der toxischen Diphtherie. I. Mitt. Beitrag zur Giftbildung von Diphtheriebazillen verschiedener Herkunft in synthetischen Nährböden. Z. Hyg. 113, 288, 1932.
279. **Locke, A. and Maine, E. R.** The relation of copper and iron to production of toxin and enzyme action. J. inf. Dis. 48, 419, 1931.
280. **Locke, A. and Maine, E. R.** The absence of seasonal changes in the toxin-producing capacity of the diphtheria bacillus. J. inf. Dis. 46, 514, 1930.
281. **Loiseau, G. et Philippe, M.** Variations du pouvoir antigéne de la toxine diphthérique dans ses rapports avec la constitution du milieu de culture. C. r. Soc. Biol. 112, 131, 1933.
282. **Loiseau, G. et Philippe, M.** Etude des variations des composants du milieu de culture destiné à la production de la toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 116, 1214, 1934.
283. **Marbe, M. et Olariu, A.** Formule simplifiée pour la production d'une toxine diphthérique puissante et de valeur antigénique élevèe. C. r. Soc. Biol. 118, 1673, 1935.
284. **Marbe, M., Antinescu-Dimitriu, O. et Stefanescu, V.** Role de l'acétate de sodium dans la production de la toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 113, 487, 1933.
285. **Marbe, M., Antinescu-Dimitriu, O. et Stefanescu, V.** Influence des hydrates de carbone (glucose et maltose) sur la production de la toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 113, 489, 1933.
286. **Marbe, M., Antinescu-Dimitriu, O. et Stefanescu, V.** Sur le temps necessaire pour la maturation d'une culture (toxine) diphtherique. C. r. Soc. Biol. 112, 1501, 1933.
287. **Maver, M. E.** The growth and toxin production of C. diphtheriae in synthetic mediums. J. inf. Dis. 47, 384, 1930.
288. **Maver, M. E.** The attenuation of the diphtheria bacillus in synthetic mediums. Observations on dissociation, antigenic relations and fermentative reactions. J. inf. Dis. 49, 9, 1931.
289. **Mustafa, A.** Le role de certains facteurs de croissance dans la production de la toxine diphtherique. C. r. Soc. Biol. 125, 615, 1937.
290. **Mustafa, A.** Le role favorisant de certains composants de l'extrait de levure dans la production de la toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 126, 558, 1937.
291. **Nureddin, O.** La toxine diphthérique obtenue avec le bouillon préparé d'après les indications de G. Ramon, ses propriétés. C. r. Soc. Biol. 103, 205, 1930.
292. **Pappenheimer, A. M.** Studies in diphtheria toxin production II. Production of potent diphtheria toxin on a simple amino-acid medium. Brit. J. of exp. Pathol. 17, 342, 1936.
293. **Pappenheimer, A. M. and Johnson, S. J.** Studies in diphtheria toxin production. I. The effect of iron and copper. Brit. J. exp. Pathol. 17, 335, 1936.
294. **Pappenheimer, A. M. and Johnson, S. J.** Studies in diphtheria toxin production. III. A simple gelatin hydrolysate medium and some properties of the toxin produced thereon. Brit. J. exp. Pathol. 18, 239, 1937.
295. **Pappenheimer, A. M., Müller, J. H. and Cohen, S.** Production of potent diphtherial toxin on a medium of chemically defined composition. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 36, 795, 1937.
296. **Philippe, M. et T.** Du role de la mucine dans la production de la toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 136, 17, 1942.
297. **Philippe, M.** Sur un nouveau mode de conversation de la propriété toxigène du bacille diphthérique. C. r. Soc. Biol. 126, 170, 1937.
298. **Philippe, M.** Essai de stabilisation de la fonction toxigène du bacille diphthérique. Culture en hypoxybiose. Ann. Inst. Pasteur, 62, 501, 1939.

299. **Plastridge, W. N. and Rettger, L. F.** Studies on carbon dioxide. V. The mechanism responsible for the preserving action of carbon dioxide on diphtheria toxin. J. Bacter. 18, 101, 1929.

300. **Pope, C. G.** Diphtheria toxin of high value. Lancet, 1931, II, 402..

301. **Pope, C. G.** The production of toxin by B. diphtheriae. I. Energy sources. Brit. J. exp. Pathol. 13, 207, 1932.

302. **Pope, C. G.** The production of toxin by B. diphtheriae. II. Effects produced by addition of iron or copper to the medium. Brit. J. exp. Pathol. 13, 218, 1932.

303. **Pope, C. G. and Smith, M. L.** The routine preparation of diphtheria toxin of high value. J. of Pathol. 35, 573, 1932.

304. **Pope, C. G. and Mealey, M.** The influence of maltose on the growth and toxin production of C. diphtheriae. Brit. J. exp. Pathol. 14, 77, 1932.

305. **Pope, C. G. and Mealey, M.** Surface growth and toxin production of C. diphtheriae. Brit. J. exp. Pathol. 14, 87, 1932.

306. **Ramon, G.** Sur la production d'une toxine diphthérique très active. C. r. Acad. Sciences, 189, 718, 1929.

307. **Ramon, G.** Sur la production de la toxine diphthérique de valeur antigène intrinsèque élevée. C. r. Soc. Biol. 112, 9, 1933.

308. **Ramon, G. Amoureux, G. et Pochon, J.** Sur la production des toxines microbiennes au moyen d'un nouveau milieu de culture à base de digestion papainique de viande. Application à l'obtention de la toxine diphthérique destinée à la préparation de l'anatoxine correspondante. Ann. Inst. Pasteur, 68, 162, 1942.

309. **Ramon, G. et Berthelot, A.** Nouveaux essais sur la production de toxine et d'anatoxine diphthériques de valeur antigène intrinsèque élevées. C. r. Soc. Biol. 110, 530, 1932.

310. **Scheff, G. and I.** Mechanism of the production of diphtheria toxin. The role of sulphur compounds and of copper and iron. J. inf. Dis. 54, 221, 1934.

311. **Schmidt, S.** Sur la production de la toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 106, 308, 1931.

312. **Schmidt, S. et Fjord-Nielsen.** Sur la stabilité des diverses fonctions spécifiques de la toxine diphthérique. Acta pathol. et microbiol. scandin. 12, 1, 1935.

313. **Siebenmann, C.** Influence of aeration and diffusion on toxin formation by C. diphtheriae. J. of Pathol. 43, 261, 1936.

314. **Siebenmann, C.** Refractometric and chemical study of diphtheria toxin. J. of Immunol. 31, 257, 1936.

315. **Simon, E.** Das Problem der toxischen Diphtherie. IV. Mitt. Weitere Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit des Toxinbildungsvermögens von Diphtheriebazillen durch Passagen auf verschiedenen Serumnährböden. Z. Kinderhlk. 54, 487, 1933.

316. **Snajder, D. und Jovanovic, Lj.** Über den Wert des Pope-Smith-Nährbodens.

317. **Taylor, E. M.** Sur la production de la toxine diphthérique de pouvoir antigène élevée. C. r. Soc. Biol. 119, 510, 1935.

318. **Taylor, E. M.** Un nouveau milieu de culture pour la production de la toxine diphtérique. Ann. Inst. Pasteur, 55, 474, 1935.

319. **Wadsworth, A. and Wheeler, M. W.** The attenuation and toxin production of the diphtheria bacillus. J. inf. Dis. 42, 179, 1928.

320. **Wadsworth, A. and Wheeler, M. W.** The attenuation and toxin production of the diphtheria bacillus. J. inf. Dis. 55, 123, 1934.

321. **Watson, A. F. and Langstaff, E.** The influence of cultural condition on the production of diphtheria toxin J. of Pathol. 30, 383, 1927.

322. **Young, C. C.** Production of diphtheria toxin with a pure stomach pig digest. China med. Journ. Suppl. I, 143, 1936.

323. **Young, C. C.** Production of diphtheria toxin. Effect of enrichment of pig stomach hydrolysates with a peptic digest of beef. China med. Journ. Suppl. II, 261, 1938.
324. **Zink, A. et Niehus-Zink, E.** La propriété toxigène du bacille diphthérique et son mode de conversation. C. r. Soc. Biol. 130, 865, 1939.

### 2. Toxinreinigung

325. **Abt, G.** Sur la purification de la toxine diphthérique au moyen des précipités de phosphate de chaux. Ann. Inst. Pasteur, 42, 1336, 1928.
326. **Ando, K. and Komiyama, T.** Purification of diphtheria toxin and anatoxin. J. of Immunol. 29, 439, 1935.
327. **Barikin, W., Kulikow, W., Minerwin, S. und Kljuchin, S.** Über das Diphtherie-Anatoxin und Toxin. Z. Immunfschg., 46, 456, 1926.
328. **Boivin, A. et Izard, Y.** Méthode pour la purification à l'acide trichloracétique des toxines et anatoxines diphthériques, tétaniques et staphylococciques. C. r. Soc. Biol. 124, 25, 1937.
329. **Boivin, A.** Sur la nature chimique de la toxine et l'anatoxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 126, 218, 1937.
330. **Brandwijk, A. C. und Tasman, A.** Reinigung und Konzentrierung von Diphtherietoxin und -Anatoxinen. IV. Reinigung von Diphtherietoxin durch Aussalzung mit Ammoniumsulfat. Z. Immunifschg. 77, 390, 1932.
331. **Bunney, W. E., Cianciarullo, J. and Kiamil, M.** A study of the acid precipitation of diphtheria toxin. J. of Immunol. 20, 417, 1931.
332. **Eaton, M. D.** The purification and concentration of diphtheriatoxin. I. Evaluation of previos methods; description of a new procedure. J. Bacter. 31, 347, 1936.
333. **Eaton, M. D.** The purification and concentration of diphtheria toxin. II. Observations on the nature of the toxin. J. Bacter. 31, 367, 1936.
334. **Eaton, M. D.** The purification and concentration of diphtheria toxin. III. Separation of toxin from bacterial proteins. J. Bacter. 34, 139, 1937.
335. **Eaton, M. D. and Gronau, A.** Comparative studies on the purification of tetanus and diphtheria toxins. J. Bacter. 36, 423, 1938.
336. **Ecker, E. E. and Weed, L. A.** Studies on the adsorption of diphtheria toxin to and elution from magnesium hydroxyde. J. Immunol. 22, 61, 1932.
337. **Eisler, M.** Über die Reaktion von Antigen und Antikörper nach Bindung des einen von ihnen an Kohle. Biochem. Z. 135, 293, 1923.
338. **Glenny, E. T. and Walpole, G. S.** Biochem. J. 9, 298, 1915.
339. **Glenny, E. T. and Barr, M.** The precipitation of diphtheria toxin by potash alum. J. of Pathol. 34, 131, 1931.
340. **Goldie, H.** Précipitation de la toxine diphthérique par les composés organiques de l'antimine. C. r. Soc. Biol. 123, 648, 1936.
341. **Goldie, H.** Influence des amino-phényl-stibinates sur le complexe de toxine et d'antitoxine. C. r. Soc. Biol. 123, 768, 1936.
342. **Goldie, H.** Influence des amino-phényl-arsinates sur le complexe de toxine et d'antitoxine. C. r. Soc. Biol. 123, 883, 1936.
343. **Goldie, H.** Influence des diverses composées isomères du sel sodique de l'acide amino-naphthalène-trisulfonique sur la structure de la toxine et de l'anatoxine diphthériques. C. r. Soc. Biol. 119, 402, 1935.
344. **Goldie, H.** Purification et concentration de la toxine et de l'anatoxine diphtériques au moyen du 2-amino-naphthalène-3, 6, 8, trisulfonate de soude. C. r. Soc. Biol. 119, 518, 1935.
345. **v. Groeer, L.** Diphtherietoxinstudien. I. Über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Diphtherietoxin. Biochem. Z. 138, 13, 1923.

346. **Groß, P.** Purification of diphtheria toxin and other bacterial toxins by adsorption. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 26, 696, 1929.
347. **Hallauer, C.** Zur Chemie der bakteriellen Toxine. Z. Hyg. 105, 138, 1925.
348. **Hansen, A. et Schmidt, S.** Préparation de l'hydroxyde d'alumium destiné à l'adsorption des toxines (anatoxines) et d'ultravirus. C. r. Soc. Biol. 120, 1150, 1935.
349. **Hansen, A. et Schmidt, S.** Sur la purification de la toxine diphtérique au moyen de l'alcohol et de l'acétone. C. r. Soc. Biol. 105, 332, 1930.
350. **Havens, L. C. and Wells, D. M.** Precipitated diphtheria toxoid. I. Preparation and antigenic activity. J. inf. Dis. 53, 138, 1933.
351. **Hosoya, S. et Miyata, S.** Sur la nature de la toxine diphtérique. Presse médic. 1928, 1401.
352. **Kissin, D. und Bronstein, L.** Zur Frage der Bildung der Anatoxine. Z. Immunfschg. 56, 11, 1928.
353. **Koulikoff, V. et Smirnoff, P.** Nature physico-chimique de la toxine et de l'anatoxine diphtériques. Ann. Inst. Pasteur, 41, 116, 1927.
354. **Krestovnikova, V., Rjachina, E. and Petrova, N.** Journ. Mikrobiol. (russian), 18, 643, 1937.
355. **Kulikow, V. und Smirnow, P.** Zbl. Bakt. I. Ref. 86, 1927.
356. **Linderström-Lang, K. et Schmidt, S.** Sur la purification de la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 103, 620, 1930.
357. **Linderström-Lang, K. und Schmidt, S.** Über Reinigung von Toxinen und Antitoxinen. Kolloid-Zschr. 51, 152, 1930.
358. **Linderström-Lang, K. and Schmidt, S.** On the purification of toxins and antitoxins. C. r. Trav. Labor. Carlsberg, 18, 1, 1930.
359. **Lundgren, H. P., Pappenheimer, A. M. and Williams, J. W.** J. Americ. Chem. Soc. 61, 533, 1939.
360. **Maschmann, E., Küster, E. und Fischer, W.** Über die Fähigkeit des Tonerdepräparates B, Diphtherietoxin zu adsorbieren. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 64, 2174, 1931.
361. **Maver, M. E.** The chemistry of diphtheria toxin produced in synthetic mediums. J. inf. Dis. 41, 1, 1931.
362. **Modern, F. et Ruff, G.** Concentration et purification des toxines et des toxoides par ultrafiltration. C. r. Soc. Biol. 123, 69, 1936.
363. **Ohyama, S.** J. of Biochemistry, 13, 255, 1931.
364. **Pappenheimer, A. M.** Diphtheria toxin. I. Isolation and characterization of a toxic protein from C. diphtheriae filtrates. J. biol. Chem. 120, 543, 1937.
365. **Pappenheimer, A. M., Lundgren, H. P. and Williams, J. W.** Studies of the molecular weight of diphtheria toxin, antitoxin and their reaction products. J. exp. Med. 71, 247, 1940.
366. **Petermann, M. L. and Pappenheimer, A. M.** J. of physical. Chem. 45, 1, 1941.
367. **Pope, C. G. and Linggood, F. V.** Purification of diphtheria toxoid. Brit. J. exp. Pathol. 20, 297, 1939.
368. **Raewsky, A. S.** Über den isoelektrischen Zustand toxinhaltiger Bouillon. Biochem. Z. 197, 8, 1928.
369. **Rubinstein, J. S., Ssosina, S. M. and Rachmantchik, G. J.** Journ. Mikrobiol. (russian), 1941, No. 18, p. 1.
370. **Russo, C.** Ultrafiltrazione della tossina e anatossina difterica. Rendiconti Ist. Sanità pubblica, 2, 945, 1939.
371. **Salimbeni, A. et Loiseau, G.** Concentration de la toxine diphtérique (et de l'anatoxine) au moyen de la congélation. C. r. Acad. Sciences 199, 242, 1935.
372. **Sbarski, B. und Nikolaeff, K.** Zur Kenntnis des Mechanismus der Immunitätserscheinungen. IV. Mitt. Dialysierungsversuch. Biochem. Z. 183, 419, 1927.
373. **Schmidt, S.** Sur la stabilité de la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 103, 104, 1930.

374. **Schmidt, S.** Sur l'adsorption de la toxine diphtérique par l'hydroxyde d'aluminium. C. r. Soc. Biol. 103, 1296, 1930.
375. **Schmidt.** S. Sur le mode de préparation des toxines et anatoxines diphtériques purifiées et hyperconcentrées. C. r. Soc. Biol. 107, 327, 1931.
376. **Schmidt, S. und Hansen, A.** Über die Reinigung und Konzentrierung von Diphtherietoxin, mit besonderem Hinblick auf die aktive Immunisierung von Menschen. Biochem. Z. 228, 263, 1931.
377. **Schmidt, S. et Hansen, A.** Sur la purification de la toxine et de l'anatoxine diphtériques par adsorption comprimée avec de l'hydrate d'aluminium et du charbon animal. C. r. Soc. Biol. 103, 1305, 1930.
378. **Schmidt, S. et Kjaer, K.** Sur la purification de la toxine diphtérique par précipitation au moyen d'un acide. C. r. Soc. Biol. 103, 1307, 1930.
379. **Schmidt, S. und Kjaer, K.** Reinigung und Konzentrierung von Diphtherietoxin und Diphtherieantitoxin durch Ausfällung mit Säuren. Biochem. Z. 228, 291, 1931.
380. **Sédaillan, P. et Gaumont, J.** Sur l'isolement de la fraction active de la toxine diphtérique par abaissement du pH. C. r. Soc. Biol. 97, 93, 1927.
381. **Sierakowski, S. et Zajdel, R.** Sur la purification des toxines diphtériques par ultrafiltration et précipitation au moyen d'un acide à un pH. convenable. C. r. Soc. Biol. 102, 107, 1929.
382. **Sierakowski, S. und Zajdel, R.** Reinigung des Diphtherietoxins mittels der Ultrafiltration und der Säureausfällungsmethoden. Acta pathol. et microbiol. scandin. Suppl. III, 381, 1930.
383. **Tasman, A. und Pondman, A.** Zur Reinigung des Diphtherietoxins und Anatoxins. Z. Immunfschg. 72, 245, 1931.
384. **Tasman, A. und van Waasbergen, J.** Reinigung von Diphtherietoxin und -anatoxin. III. Vergleichende Reinigung durch Adsorption an Aluminium-Hydroxyd-Suspension und Fällung mit Aluminiumsulfat. Z. Immunfschg. 75, 164, 1932.
385. **Tasman, A. und Brandwijk, A. C.** Reinigung und Konzentrierung von Diphtherietoxin und -anatoxin. VI. Z. Immunfschg. 81, 137, 1933.
386. **Theorell, H. und Norlin, G.** Hochgereinigtes Diphtherieantigen. Z. Immunfschg. 91, 63, 1937.
387. **Wadsworth, A. and Quigley, J. J.** Studies on the purification of diphtheria toxin by ultrafiltration. Amer. J. of Hygiene, 20, 225, 1934.
388. **Wadsworth, A., Wheeler, M. W. and Mendez, L.** The attenuation and toxin production of the diphtheria bacillus. VI. Ultrafiltration of toxin produced in peptone-dialysate mediums. J. inf. Dis. 62, 128, 1938.
389. **Watson, A. F. and Wallace, U.** The concentration of diphtheria toxin by acid precipitation. J. of Pathol. 27, 289, 1924.
390. **Watson, A. F. and Langstaff, E.** The preparation and some properties of purified diphtheria toxoid. Biochem. J. 20, 763, 1926.

### 3. Toxinentgiftung

391. **Agnoli, R.** Boll. Soc. ital. Biol. sperim. 6, 756, 1933.
392. **Anazawa, Y.** Sei-i-Kwai Med. J. (japan.) 53, 1, 1934.
393. **Baumgarten und Luger.** Über die Wirkung von Metallen auf Bakterientoxine. Wien. klin. Wschr. 1917, 1259.
394. **Berthelot, A. et Ramon, G.** Sur les agents de transformation des toxines en anatoxines. C. r. Acad. Sciences, 180, 340, 1925.
395. **Birkhaug, K. E.** Detoxifying and desinfecting properties of sodium salicylate. Its action on diphtheria and tetanus toxins and on streptococcus toxic filtrates. J. inf. Dis. 48, 212, 1931.

396. **Bunney, W. E.** The action of formaldehyde on diphtheria toxin. J. of Immunol. 20, 47, 1931.

397. **Dieckhoff, J.** Diphtherie-Formoltoxoid und Ascorbinsäure. Klin. Wschr. 1937, 1463.

398.

399. **Eaton, M. D.** Chemical modification of purified diphtheric toxin. I. The mechanism of detoxification by formaldehyde. J. Immunol. 35, 419, 1937.

400. **Duchon, L.** Neutralisation des toxines diphtériques hautement toxiques par le bacille pyocyanique. Presse médic. 1928, 983.

401. **Eisler, M. und Gottdenker, F.** Über die Entgiftung des Diphtherietoxins durch Lanolin und Sterine sowie über die Beeinflussung seines Immunisierungsvermögens durch Cholesterin. Z. Immunfschg. 90, 427, 1937; 91, 49, 1937.

402. **Follensby, E. M. and Hooker, S. B.** The reaction between diphtheric toxin and formaldehyde. J. Immunol. 31, 141, 1936.

403. **Ghosh, B. and Guha, B. C.** Science and Culture (Calcutta), 3, 243, 1937.

404. **Ghosh, B. and Guha, B. C.** J. Indian Chem. Soc. 15, 438, 1938.

405. **Glenny, E. T., Hopkins, B. E. and Pope, C. G.** Further notes on modification of diphtheria toxin by formaldehyde. J. of Pathol. 27, 261, 1924.

406. **Glenny, E. T. and Sudmersen, H. J.** Notes on the production of immunity to diphhteria toxin. J. of Hygiene, 20, 176, 1921.

407. **Goldie, H.** Inactivation du filtrat diphtérique toxique par le cetène. C. r. Soc. Biol. 126, 974, 1937.

408. **Goldie, H.** Influence du cetène sur la toxine diphtérique purifiée par la dialyse. C. r. Soc. Biol. 126, 977, 1937.

409. **Goldie, H.** Influence des composés de la série du moranyl et de leur matière première sur la toxine diphthérique. C. r. Soc. Biol. 118, 42. 1935.

410. **Goldie, H.** Influence des arsénobenzols sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 125, 863, 1937.

411. **Grasset, E.** Action des composés organiques d'or sur les toxines diphtérique et tétanique et propriétés antigénique des derivés resultants. C. r. Soz. Biol. 116, 1220, 1934.

412. **Greenwald, C. K. and Harde, E.** Vitamin C and diphtheria toxin. Proc. Soc. exp. Bio. & Med. 32, 35 and 1157, 1935.

413. **v. Groeer, F., Altenberg, E. und Lille, F.** Über den Einfluß gewisser chemischer Komplexe auf die Giftigkeit bakterieller Toxine. I. Der Einfluß der Dioxyphenole auf das Diphtherietoxin. Z. Immunfschg. 87, 229, 1936.

414. **Grooten, M. et Bezsonoff, N.** Action de la vitamine C sur la toxine diphtérique et sensibilité du bacille de la coqueluche vis-à-vis de l'hydroquinol et de la vitamine C. Ann. Inst. Pasteur, 56, 413, 1936.

415. **Hanzlik and Terade.** Protective measures in diphtheria intoxication. J. of Pharmacol. 56, 269, 1936.

416. **Harde, E. et Philippe, M.** C. r. Acad. Sciences, 199, 738, 1934.

417. **Hewitt, L. F.** Note on the possible mechanism of diphtheria toxoid formation. Biochem. J. 24, 983, 1930.

418. **Holden, H. F. and Freeman, M.** Australian J. exp. Biol. and Medic. Sciences, 8, 189, 1931.

419. **Jungeblut, C. W. and Zwemer, R. L.** Inactivation of diphtheria toxin in vivo and in vitro by cristalline vitamin C (ascorbic acid). Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 32, 1229, 1935.

420. **Kasahara, M. und Takagi, T.** Über den Einfluß der ultraakustischen Schallwellen auf das Diphtherietoxin. Mschr. Kinderhlk. 72, 8, 1938.

421. **Kissin, D. und Bronstein, L.** Zur Frage der Bildung der Anatoxine. II. Mitt. Über das Verhältnis des Aminostickstoffes in Diphtherietoxinen und -Anatoxinen. Z. Immunfschg. 66, 210, 1930.

422. **Kovàcz, Z.** Die Rolle des Glutathions und des Vitamins C in der Detoxication. Klin. Wschr. 1942, 688.
423. **Krestovnikowa, W. A. und Rjachina, E. M.** Über die Umwandlung des Diphtherietoxins in Toxoid. Z. Immunfschg. 65, 444, 1930.
424. **Larson, W. P., Evans, R. D. and Nelson, E.** The effect of sodium ricinoleate upon bacterial toxins, and the value of soap-toxin mixtures as antigens. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 22, 194, 1924.
425. **Larson, W. P. and Halvorson, H. O.** The effect of concentration upon the neutralization of toxin by sodium ricinoleate. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 22, 550, 1925.
426. **Laubenheimer, K.** Über die Einwirkung von Metallen und Metallsalzen auf Bakteriengifte. Arch. Hyg. 92, 78, 1920.
427. **Le Fèvre de Arric.** Action des colloides métalliques sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 82, 1143, 1919.
428. **Leulier, A., Sédaillan, P. et Clavel, J.** Sur la formation de la toxine et de l'anatoxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 99, 1746, 1928.
429. **Leulier, A., Sédaillan, P. et Clavel, J.** Sur la formation de la toxine et de l'anatoxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 100, 679, 1929.
430. **Leulier, A., Sédaillan, P. et Clavel, J.** Etudes sur la toxine diphtérique. Analyse chimique et analyse biologique. Bull. Soc. chimie biol. 11, 413, 1929.
431. **Liu, F. C.** Photodynamic action of methylene blue on diphtheria toxin. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 33, 337, 1935.
432. **Locatelli, P.** Glutatione e tossine difterica. Nota I. Azione del glutatione ridotto sulla tossina difterica in vitro. Boll. Ist. sieroterap. milan. 17, 395, 1938.
433. **Loewy, O.** Beiträge zur Toxinentgiftung. Zbl. Bakt. I. Orig. 84, 61, 1920.
434. **Marie, D. C.** Du mode d'action de l'adrénaline sur les toxines bactériennes. Ann. Inst. Pasteur, 1919, 645.
435. **Marie, D. C.** De quelques propriétés biologiques de l'adrénaline. Ann. Inst. Pasteur, 52, 481, 1934.
436. **Marinelli, G.** Sull'antagonismo delle toxine batteriche. Boll. Ist. sieroterap. Milan 11, 537, 1932.
437. **Michelazzi, L.** I diazocomposti. Le proprietà antigeni e allergisanti di alcuni prodotti batterici copulati con acido solfanilico diazotato. Boll. Ist. sieroterap. milan. 20, 272, 1941.
438. **Moloney, P. J. and Taylor, E. M.** Trans. Roy. Soc. of Canada, 24, Sect. V, 127, 1930.
439. **Nélis, P.** Action de l'ozone sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 94, 139, 1926.
440. **Nélis, P.** Nouvelles recherches sur l'action de l'oléate de soude vis-à-vis de la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 114, 591, 1933.
441. **Nélis, P.** Atténuation et pouvoir antigene de la toxine diphtérique traiée par diverses substances. Ann. Inst. Pasteur, 40, 666, 1926.
442. **Nitzesco, J., Timus, D. et Angelesco, C.** Bull. Acad. Medecine de Roumanie, 6, 781, 1938.
443. **Pakter, J. and Schick, B.** Influence of vitamin C on diphtheria toxin. American Journ. of Diseases of Children, 55, 12, 1938.
444. **Pappenheimer, A. M.** Diphtheria toxin. II. The action of ketene and formaldehyde. J. biol. Chem. 125, 200, 1938.
445. **Polonyi, P.** Einfluß des C-Vitamins auf den Krankheitserreger der Diphtherie. Wien. med. Wschr. 1935, 685; Münch. Med. Wschr. 1935, 1096.
446. **de Potter, F.** Action des agents oxydants sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. biol. 89, 422, 1923.
447. **Ray, N. N.** Science and Culture (Calcutta), 3, 496, 1937.
448. **Rossi, G.** L'azione di alcune soluzioni colloidali sopra la tossina difterica. Biochimica é Therapia sperimentale, 17, 437; 1930.
449. **Salkowski, E.** Über die Wirkung der Antiseptica auf Toxine. Berlin. klin. Wschr. 35, 545, 1898.

450. **Scaglioni, C. e Lennovari, R.** Pathologica (Genova), 31, 333, 1939.
451. **Schmidt, H. und Scholz, W.** Studien zur Kenntnis der Eigenschaften von Diphtherie-Toxin-Antitoxin-Gemischen. III. Die Beziehung der direkten Giftwirkung des Diphtherietoxins zu seiner Bindungsfähigkeit mit Antitoxin. Zugleich ein Beitrag zur Vorstellung über die Natur des Diphtherietoxins. Arch. Hyg. 96, 172, 1926.
452. **Schmidt, S.** Über den Mechanismus der Anatoxinbildung. Z. Immunfschg. 78, 356, 1933.
453. **Schmidt, S.** Über die Einwirkung von Formaldehyd auf Diphtherietoxin. I. Die Bedeutung der Formaldehydkonzentration, der Temperatur und der Wasserstoffionenkonzentration auf die Anatoxinbildung. Z. Immunfschg. 78, 27, 1933.
454. **Schmidt, S.** Studien über den Einfluß verschiedener aliphatischer und aromatischer Verbindungen auf das Diphtherietoxin. Biochem. Z. 256, 158, 1932.
455. **Schmidt, S.** The action of certain organic compounds upon diphtheria toxin. Kobenhavn. Levin & Munksgaard, 1932.
456. **Schmidt, S.** Du mécanisme d'action de diverses composés chimiques sur les toxines bactériennes. Ann. Inst. Pasteur, 54, 325, 1935.
457. **Schmidt, S.** Influence de diverses aldéhydes sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 108, 151, 1931.
458. **Schmidt, S.** Influence de quelques alcohols, éthers et éthers-sels sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 108, 149, 1931.
459. **Schmidt, S.** Influence de quelques acides organiques aliphatiques sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 108, 154, 1931.
460. **Schmidt, S.** Influence de quelques hydrures de carbone et leur derivés halogénés sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 108, 146, 1931.
461. **Schmidt, S.** Influence de quelques amines et amides aliphatiques sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 108, 536, 1931.
462. **Schmidt, S.** Influence de quelques derivés de benzène sur la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 108, 537, 1931.
463. **Smith, M. D., Daly, J. and Moloney, P. J.** The detoxifying action of human bile on diphtheria toxin. J. of Pathol. 47, 625, 1938.
464. **Schulze, E. und Hecht, U.** Über die Wirkung der Ascorbinsäure auf Diphtherie-Formoltoxoid und Tetanustoxin. Klin. Wschr. 1937, 1460.
465. **Schwarz and Cislaghy.** Experimental study of the biological action of ascorbic acid. I. Neutralizing effect on diphtheria toxin. Minerva medica (Torino), 1935, 202.
466. **Sdrodowski, P. und Chalapina, K.** Studien über Diphtherie-Anatoxin. Zbl. Bakt. I. Orig. 103, 200, 1927.
467. **Sigal, A. and King, C. G.** Vitamin C and diphtheria toxin. J. of Pharmacol. 59, 468, 1937.
468. **Stark, S. N., Sherman, J. M. and Stark, P.** Destruction of diphtheria toxin by bacteria. J. inf. Dis. 43, 569, 1928.
469. **Velluz, L.** Recherches sur les phénomènes de neutralisation des toxines par les aldéhydes. C. r. Soc. Biol. 102, 745, 1929.
470. **Velluz, L.** Sur le mécanisme de l'inactivation des toxines par les aldéhydes. C. r. Soc. Biol. 102, 819, 1929.
471. **Velluz, L.** Fonctions aminées et inactivation des toxines microbiennes. C. r. Soc. Biol. 127, 35, 1938.
472. **Velluz, L.** Action comparée du sulfure de carbone sur les toxines tétanique et diphtérique. Essai d'interprétation. C. r. Soc. Biol. 128, 11, 1938.
473. **Velluz, L.** Inactivation de quelques toxines par la papaine. C. r. Soc. Biol. 128, 132, 1938.
474. **Velluz, L.** Importance des phénomènes d'oxydation dans l'inactivation des toxines in vitro. C. r. Soc. Biol. 131, 602, 1939.
475. **Vincent, H.** C. r. Acad. Sciences, 204, 1693, 1937.

476. **Vincent, H.** Remarues sur les propriétés antitoxiques et antimicrobiennes du salicylate de soude. Presse médic. 1928, 983.

477. **Vincent, H. et Velluz, L.** Sur les propriétés cryptotoxiques de l'oxynaphthoate de sodium. Son action spéciale sur la toxine diphtérique. C. r. Acad. Sciences, 194, 1697, 1932.

478. **Wadsworth, A., Quigley, J. J. and Sickles, G. R.** Preparation of diphtheria toxoid. The action of formaldehyde; precipitation by calcium. J, inf. Dis. 61, 237, 1937.

479. **Wadsworth, A., Quigley, J. J. and Sickles, G. R.** The preparation of diphtheria toxoid by treatment of the toxin with 1 per cent formalin and precipitation with acetone. J. Immunol. 25, 139, 1933.

480. **Wadsworth, A. and Pangborn, M. C.** J. biol. Chem. 116, 423, 1936.

481. **Welch, H. and Megrail, E.** Lack of antigenic power of a highly purified diphtheria toxin and detoxification by ultraviolet light. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 27, 595, 1930.

482. **Yokoyama, S.** On the influence of vitamin C on diphtheria toxin. Kitasato Arch. of exp. Med. 15, 338, 1938.

483. **Zwemer, R. L. and Jungeblut, C. W.** Effect of various corticoadrenal extracts on diphteria toxin in vivo and in vitro. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 32, 1583, 1935.

484. **Bayliss, M.** Effect of the chemical constitution of soaps upon their action on diphtheria toxin. J. inf. Dis. 59, 131, 1936.

**4. Diphtherietoxin und Bakterienproteine**

485. **Bori, D. V.** Ricerche sulla intossicazione difterica. Esperienze su di un particolare veleno difterico secondario. Boll. Ist. sieroterap. milan. 19, 239, 1940.

486. **Dernby, K. G. und Walbum, L. E.** Studien über die Bildung des Diphtherietoxins. Biochem. Z. 138, 505, 1923.

487. **Dernby, K. G. und Siwe, St.** Die protolytischen Enyme der Diphtheriebazillen und ihre Bedeutung für das Wachstum und die Toxinbildung derselben. Biochem. Z. 134, 3, 1922.

488. **Dernby, K. G.** Etude sur la formation de la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 88, 109, 1923.

489. **Eisler, M.** Zur Genese und Charakteristik der Bakteriengifte. Z. Immunfschg. 56, 209, 1938.

490. **Eisler, M. und Kovàcs, N.** Über Giftentstehung und Giftgewinnung aus Bakterien. Z. Immunfschg. 46, 238, 1926.

491. **Fujioka, N.** Über Toxingewinnung aus Bakterien mit Bouillon oder verschiedenen Salzlösungen. Z. Immunfschg. 57, 466, 1928.

492. **Fukutaki, K.** Die Giftigkeit der Diphtheriebazillenleiber. Wien. med. Wschr. 19, 474, 1924.

493. **Goldie, H.** La substance endocellulaire du bacille diphtérique. C. r. Soc. Biol. 112, 1314, 1933.

494. **Goldie, H.** Effets, sur la souris, de la substance endocellulaire du bacille diphtérique. C. r. Soc. Biol. 113, 703, 1933.

495. **Goldie, H.** Recherches sur l'effet de la substance endocellulaire du bacille diphtérique. C. r. Soc. Biol. 114, 410, 1933.

496. **Goldie, H.** Caractères physico-chimiques de la substance endocellulaire du bacille diphtérique. C. r. Soc. Biol. 114, 1149, 1933.

497. **Hirsch, J.** Zur Chemie des Diphtheriebacillus. II. Mitt. Über wässrige Extrakte aus Diphtheriebazillen. Z. Hyg. 114, 195, 1932.

498. **Kossel, H.** Zur Kenntnis des Diphtheriegiftes. Zbl. Bakt. I. Orig. 19, 977, 1896.

499. **Kryshanowski, W. N.** Ueber die biochemischen Beziehungen der Diphtheriebazillen zu den Eiweißkörpern des Tierorganismus. I. Mitt. Zur Frage vom Virulenzfaktor und den partiellen Antigenen des Diphtheriebazillus. Zbl. Bakt. I. Orig. 110, 1, 1929.
500. **Kryshanowski, W. N.** Über die biochemischen Beziehungen der Diphtheriebazillen zu den Eiweißkörpern des Tierorganismus. II. Mitt. Beiträge zur Frage der toxischen Eigenschaften der Eiweißfraktionen und des biochemischen Baues des Diphtherietoxins. Zbl. Bakt. I. Orig. 112, 161, 1929.
501. **Kryshanowski, W. N.** Ueber die biochemischen Beziehungen der Diphtheriebazillen zu den Eiweißkörpern des Tierorganismus. III. Mitt. Beiträge zur Frage von den immunisierenden Eigenschaften der partiellen Antigene der Diphtheriebazillen. Zbl. Bakt. I. Orig. 125, 49, 1932.
502. **Leulier, A., Sédaillan, P. et Clavel, J.** Sur la formation de la toxine et de l'anatoxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 100, 679, 1929.
503. **O'Meara, R. A. Q.** A new concept of the toxaemia of diphtheria. Lancet, 1941, I, 205.
504. **Murillo, F.** Über die Diphtherietoxinkurve. Zbl. Bakt. I. Orig. 35, 203. 1904.
505. **Prigge, R.** Experimentelle Untersuchungen über die Entstehung des Diphtheriegiftes. Z. Immunfschg. 77, 421, 1933.
506. **Ritossa, P. e Gueli, U.** Ricerche sulla cossidetta „istotossina". Ann. Igiene, 52, 201, 1942.
507. **Schmidt, H.** Der Reynalsche Diffusionsfaktor. Erg. Hyg. 24, 365, 1941.
508. **Semah, F.** Recherches sur la toxicité de quelques organes dans l'intoxication diphtérique expérimentale. Acta paediatr. 27, 219, 1940.
509. **Walbum, L. E.** Studien über die bakteriellen Toxine. III. Bildung des Diphtherietoxins. Biochem. Z. 136, 601, 1923.
510.
511. **Dessy, G.** I componenti endotossici del Corynebacterium diphtheriae. Boll. Ist. sieroterap. milan. 21, 491, 1942.

## Pathologische Physiologie der Wirkung des Diphtherietoxins unter Berücksichtigung der einzelnen Gewebe und Organe und der dadurch bedingten Stoffwechselstörungen

512. **Dold, H.** Der bakterienantagonistische Anteil an der keimschädigenden Wirkung des Speichels (der Mundhöhlenflüssigkeit). Z. Hyg. 124, 579, 1942.
513. **Dold, H.** Über die Rolle der Inhibition (Keimvermehrungshemmung) im Gesamtvorgang der Mikrobenabwehr. Klin. Wschr. 1944, 5.
514. **Gins, H. A., Krömer, G. und Link, T.** Untersuchungen über die ersten Reaktionsabwehrerscheinungen in der infizierten Haut. Zbl. Bakt. I. Orig. 142, 225, 1938.
515. **Hammerschmidt, J.** Der Mechanismus des Diphterieschutzes. Zbl. Bakt. I. Orig. 143, 345, 1939.

### 1. Toxinverteilung im Körper

516. **Bachmann.** Echte Diphtheriebazillen und diphtherieähnliche Bazillen im Phagozythoseversuch. Zbl. Bakt. I. Orig. 86, 433, 1921.
517. **Beumer, H.** Zur Kenntnis der Schutzwirkungen des Cholesterins. Z. Kinderhlk. 35, 298, 1923.
518. **Bieling, R. und Gottschalk, A.** Die Verteilung der Toxine im Körper. Z. Hyg. 99, 125, 1923.

519. **Bieling, R. und Gottschalk, A.** Bindung, Ausscheidung und Vernichtung von Toxinen im Körper. Z. Hyg. 99, 142, 1923.

520. **Cantor, G.** Acione del siero di sangue di cavia difterica sul processo della fagocitosi di bacillo della difterite. Giorn. Batter. 9. 478, 1926.

521. **Clauberg, K. W. und Hückel, R.** Zum Einfluß der Gewebslipoide auf den Ablauf der bakteriellen Intoxikation. Z. Hyg. 121, 113, 1939.

522. **Coca, A. F., Russel, E. F. and Baughman, W. H.** The reaction of the rat to diphtheria toxin with observations on the technic of the Roemer method of testing diphtheria toxin and antitoxin. J. Immunol. 9, 387, 1921.

523. **Degkwitz, R.** Über die maligne toxische Diphtherie. Med. Welt, 1937, 636.

524. **Dujarric de la Rivière, R. et Kossovitch, N.** Globules rouges et immunité. Ann. Inst. Pasteur, 51, 149, 1933.

525. **v. Eisler, M. und Gottdenker, F.** Entgiftung des Diphtherietoxins durch Sterine und erhöhte Bildung von Antitoxin durch Immunisierung mit Gemischen von Cholesterin und Diphtherietoxin bzw. -toxoid. Vorläufige Mitteilung. Wien. klin. Wschr. 1937, 54.

526. **v. Eisler, M. und Gottdenker, F.** Versuche zur Entgiftung bakterieller, pflanzlicher und tierischer Gifte durch Cholesterin. Z. Immunfschg. 92, 112, 1938.

527. **Friedemann, U. und Elkeles, A.** Über die Permeabilität der Bluthirnschranke für Bakteriengifte. Experimentelle Untersuchungen über die Diphtherievergiftung. Z. exp. Med. 74, 293, 1930.

528. **Gildemeister, E.** Läßt sich im Blute des Diphtheriekranken Diphtherietoxin nachweisen? Zbl. Bakt. I. Ref. 104, 528, 1932; Dtsch. med. Wschr. 1932, 657.

529. **Gildemeister, E. und Watanabe, H.** Experimentelle Diphtheriestudien. I. Mitt. Über den Nachweis von Diphtherietoxin im diphtherieinfizierten Meerschweinchen. Zbl. Bakt. I. Orig. 121, 328, 1931.

530. **Glusmann, M. P.** Über die Adsorptionsfähigkeit der Erythrozyten und die Diphtherieimmunität. Biochem. Z. 177, 309, 1926.

531. **Kobzarenko.** Recherches sur la fixation des toxines par les leucocytes. Ann. Inst. Pasteur, 29, 190, 1915.

532. **Griasnow, N. J.** Zur Frage nach der Existenz der Diphtherietoxinadsorption durch Erythrozyten. Biochem. Z. 184, 28, 1928.

533. **Gogin, E. F.** Über die Beeinflussung der Phagozythose durch Diphtherie- und Tetanustoxin. Mikrobiolog. Journal (russian), 5, 1927.

534. **Leupold, E. und Bogendörfer, L.** Die Bedeutung des Cholesterins bei Infektionen. Dtsch. Arch. klin. Med. 140, 28, 1922.

535. **Moor, H. D. and Newport, N. M.** The effect of lymphocytes in vitro upon bacterial toxins. J. Lab. & clin. Med. 24, 471, 1939.

536. **Lubrano, A. e Pavani, G.** Ricerche sul potere leicocido del siero di sangue degli ammalati di difterite.. Boll. Ist. sieroterap. milan. 18, 694, 1938.

537. **Neumann, E.** Experimentelle Beiträge zur Frage des Diphtherietoxinnachweises im menschlichen Blutserum. Jahrb. Kinderhlk. 125, 1929.

538. **Noster, W.** Experimentelle Untersuchungen zur Bindung des Diphtherietoxins. Zbl. Bakt. I. Orig. 140, 243, 1937.

539. **Pettit, A.** Action de la toxine diphtérique sur le rat. Ann. Inst. Pasteur, 28, 663, 1914.

540. **Ritossa, P.** Ricerche sperimentali sull'assorbimento della tossina difterica da parte dei diversi tessuti. ANN. d'Igiene, 1938, 282.

541. **Ritossa, P. e Hirsch, J.** Modificano i leucociti umani la tossina difterica. Ann. d'Igiene, 45, 221, 1935.

542. **Sbarsky, B.** Zur Kenntnis des Mechanismus der Immunitätserscheinungen. I. Mitt. Die Adsorption des Diphtherietoxins durch Meerschweinchen- und Rattenerythrozyten. Biochem. Z. 169, 113, 1926.

543. **Sbarsky, B. und Subkowa, L.** Zur Kenntnis des Mechanismus der Immunitätserscheinungen. II. Mitt. Einfluß einiger Aminosäuren auf die Wirkung des Diphtherietoxins. Biochem. Z. 172, 40, 1926.
544. **Schmidt, H.** Zur Frage der relativen Immunität von Ratten gegenüber Diphtherietoxin. Z. Immunfschg. 54, 518, 1928.
545. **Schmidt, H. und Stockhusen, P.** Über die Bindung von Diphtheriegift an Gewebszellen und dessen Lösungsmöglichkeit durch Antitoxin. Dtsch. Med. Wschr. 1936, 463.
546. **Stefanenko, L. J.** Klitscheskaja Medizina (russian), 1936, 1001.
547. **Steinmaurer, H.** Nachweis von freiem Diphtherietoxin im Patientenblut. Med. Klinik, 1938, 463.
548. **Suranyi, L. und Jarno, L.** Über den Einfluß der Lipoide auf die Toxinwirkung. Z. Immunfschg. 57, 199, 1928.
549. **Uffenheimer, A.** Der Nachweis des Toxins in dem Blute des Diphtheriekranken. Münch. med. Wschr. 1906, 1607.
550. **Vacirca, F.** Sul destino della tossina difterica iniettata negli animali. Boll. Ist. sieroterap. milan. 16, 778, 1937.
550a. **Wadsworth, A. and Vories, R.** The action of leucocytes and brain tissue on diphtheria and tetanus toxin. J. Immunol. 6, 913, 1921.
550b. **Wadsworth, A. and Hoppe, E. H.** The action of bacterial culture products on phagocytosis. J. Immunol. 6, 399, 1921.

### 2. Wirkung auf die Gewebskulturen in vitro

551. **Evans, F. L.** The action of diphtheric toxin on embryonic chicks. I. Action of the toxin. II. Titration of toxin in the chick embryo. J. Immunol. 34, 393, 1938.
552. **Krotowski, A. A.** Quantitative Untersuchungen über die Wirkung des Diphtherietoxins auf das Wachstum und den Stoffwechsel der Gewebskulturen. Zbl. Bakt. I. Orig. 117, 328, 1930.
553. **Krontowski, A. A. et Jazimirska-Krontowska, M.** La dynamique chimique des processus vitaux dans les cultures de tissus et l'action exercée par la toxine diphtérique. C. r. Soc. Biol. 102, 293, 1929.
554. **Levaditi, C. et Muttermilch, S.** Action de la toxine diphtérique sur la survie des cellules in vitro. C. r. Soc. Biol. 74, 379, 1913.
555. **Levaditi, C. et Muttermilch, S.** La sérothérapie antidiphtérique, préventive et curative des éléments cellulaires, à l'état de vie prolongée in vitro. C. r. Soc. Biol. 74, 614, 1913.
556. **Levaditi, C.** L'importance des cultures cellulaires du pint de vue bactériologique, immunologique et chimiothérapeutique. Arch. für exp. Zellfschg. 6, 187, 1928.
557. **Mendeléef, P.** Action d'antigènes sur les organes et les tissus „in vitro". Arch. f. exp. Zellfschg. 6, 220, 1928.
558. **Tunnicliff, R.** Use of paramaecia for studying toxins and antitoxins (measles, scarlet fever and diphtheria). Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 26, 213, 1928.
559. **Oehler, R.** Wirkung von Bakteriengiften auf Ciliata. Zbl. Bakt. I. Orig. 86, 494, 1921.
560. **Sherman, J. M., Stark, C. N. and P. W.** Further observations on apparent effect of diphtheria toxin on growth of bacteria. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 24, 545, 1927.
561. **Wadsworth, A. and Hoppe, E.** The neutralization or destruction of diphtheria toxin by tissue. J. exp. Med. 53, 821, 1931.
562. **Walthard, B.** Die Beeinflussung der Gewebsatmung (Rattenleber) durch Diphtherietoxin, Nährbouillon und eiweißhaltige Ringerlösung. Z. exp. Med. 93, 246, 1934.

### 3. Wirkung auf die Gefäßwände — seröse Entzündung


563. **Addari, F. und Gottdenker, F.** Über den Einfluß der Diphtherietoxinvergiftung auf den Chlorspiegel des Blutes. Klin. Wschr. 1937, 568.
564. **Bonnet, G. e Casassa, M. T.** Sull comportamento della proteinemia nella difterite. Giorn. Batter. 19, 303, 1937.
565. **Cassoute, Poinso et Poursines.** Les hémorrhagies, la cholésterinémie et la glycémie dans la diphtérie maligne. Presse médicale 1934, 239.
566. **Dieckhoff, J.** Kreislauf bei toxischer Diphtherie bzw. experimenteller Diphtherieintoxikation und seine Beeinflussung durch Veritol. Klin. Wschr. 1937, 1154.
567. **Dieckkoff, J.** Über die Ursache des Kollapses bei Diphtherie-, Scharlach- und Ruhrerkrankungen. Mschr. Kinderhlk. 90, 193, 1942.
568. **Dieckhoff, J.** Über den Einfluß des Desoxycorticosteronacetats (Percorten) auf Kreislauf- und Gasdiffusionsstörungen bei experimenteller Diphtherie- und Dysenterieintoxikation. Klin. Wschr. 1943, 50.
569. **Dieckhoff, J.** Über Störungen des Mineralstoffwechsels und der Capillarenpermeabilität bei schweren Infektionskrankheiten bzw. experimenteller Diphtherie- und Dysenterieintoxikation. Klin. Wschr. 1943, 378.
570. **Eppinger, H., Kaunitz, H. und Popper, H.** Die seröse Entzündung. J. Springer Verlag, Wien, 1936.
571. **Gohr, H. und Bolt, W.** Stoffwechselphysiologische Untersuchungen bei toxischer Diphtherie unter besonderer Berücksichtigung der Leberfunktion, des Weltmannschen Koalugationsbandes und der Eiweißkonstanten des Serums. Klin. Wschr. 1940, 808.
572. **Goldie, H.** Action de la toxine diphtérique sur le plasma sanguin. De l'effet de la toxine sur la coagulation du sérum par la chaleur. C. r. Soc. Biol. 115, 946, 1934.
573. **Goldie, H.** Action de la toxine diphtérique sur le plasma sanguin. Du pouvoir anticoagulant de la toxine. C. r. Soc. Biol. 115, 287, 1934.
574. **Günther, G. W.** Die unter dem Bilde des akuten bis protrahierten Kollapses verlaufende intravenöse Diphtherietoxinvergiftung des Kaninchens. Beiträge zur patholog. Anatomie, 105, 256, 1941.
575. **Hanke, H.** Über experimentelle erosive (peptische) Gastritis durch Diphtherietoxin. Beiträge zur patholog. Anatomie, 95, 391, 1935.
576. **v. Kiß, P.** Über die Blutungen im Verlaufe der Diphtherie. Arch. Kinderhlk. 98, 193, 1933.
577. **Nitschke, A. und Krätschell, B.** Blutveränderungen bei der toxischen Diphtherie und ihre Beziehungen zum Nebennieren-Ausfall. Klin. Wschr. 1938, 374.
578. **Nitschke, A.** Über einen neuen Kalium-senkenden Extrakt aus der Nebenniere. Klin. Wschr. 1938, 390.
579. **Sampedro, J.** Bol. Inst. Hyg. del Dep. Salubridad-Mexico, No. 1, 12, 1932.
580. **Starlinger, W. und Winands, E.** Über das Verteilungsverhältnis der zirkulierenden Eiweißkörper im Verlauf krankhafter Zustände. Z. exp. Med. 60, 138, 1928.
581. **Ströder, J.** Das Wesen des diphtherotoxischen Vasomotorenkollapses im Lichte neuer experimenteller Erkenntnisse. Dtsch. Med. Wschr. 1942, 1168.
582. **Ströder, J.** Untersuchungen über Permeabilitätsprobleme bei diphtherischer Intoxikation. Erg. inner. Medizin, 62, 532, 1942.
583. **Ströder, J.** Über den Einfluß des Diphtherietoxins auf die Permeabilität der Blutgefäßwände für Wasser und Salze. Arch. f. exp. Pathol. und Pharmakol. 198, 604, 1941.
584. **Ströder, J.** Die Schrankendichte intrakranieller Cappilarbezirke bei experimenteller diphtherischer Intoxikation. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Blut-Liquor und der Bluthirnschranke. Z. exp. Med. 110, 753, 1942.
585. **Ströder, J.** Das Verhalten eines artfremden Serums im normalen und im mit Diphtherietoxin vergifteten Organismus. Z. Immunfschg. 102, 32, 1942.

586. **Tichomirow, D. M.** Mikroskopische Befunde von Diphtheriebazillen mit eigenartigen pathologisch-histologischen Veränderungen in der Lunge von Meerschweinchen nach experimenteller Infektion mit einem besonderen Diphtheriestamm. Zbl. Bakt. I. Orig. 128, 389, 1933.
587. **Yokoyama, T.** Gastritis due to diphteria toxin. J. orient. Med. 27, 1; 1937.
588. **Zink, K. H.** Leberschaden und Stoffwechsel bei der Diphtherie. Z. Kinderhlk. 62, 782, 1941.

**4. Wirkung auf die Nebennieren. Beteiligung der Ascorbinsäure, Adrenalins, Glutathions usw.**

589. **Abramow, S.** Pathologisch-anatomische Studien über experimentelle Diphtherieintoxikation und Diphtherieimmunität. (Beitrag zur Kenntnis der Pathogenese der Diphtherie.) Z. Immunfschg. 15, 12, 1912.
590. **Aicham, A. und Bock, H.** Zur Beeinflussung der experimentellen Diphtherie durch Vitamin C und Nebennierenrindenextrakte. Mschr. Kinderhlk. 65, 289, 1935.
591. **Arkwright, J. A. and Zilva, S. S.** Some observations on the effect of diet on the inflammatory reaction. J. of Pathol. 27, 346, 1924.
592. **Ashford, C. A.** The adrenaline content of the suprarenal glands in diphtheria intoxication. Brit. J. exp. Pathol. 20, 385, 1939.
593. **Bamberger, P., Never, H. E. und Oelkers, H. A.** Kohlehydratstoffwechsel und Gewebsatmung bei diphtherischer Vergiftung. Klin. Wsch.r 1938, 151.
595. **Bamberger, P. und Wendt, L.** Über Beeinflussung diphtherischer Kreislaufschwäche durch Nebennierenrindenhormon und Vitamin C. Klin. Wschr. 1935, 846.
594. **Bamberger, P., Never, H. A. und Mitarbeiter.** Stoffwechseluntersuchungen bei experimenteller Diphtherie des Hundes. Z. exp. Med. 104, 511, 1938.
596. **Bamberger, P.** Beiträge zur Therapie und Pathogenese der malignen Diphtherie. Z. Kinderhlk. 58, 306, 1936.
597. **Bernhardt, H.** Über die Beeinflussung diphtherischer Kreislaufschwäche durch Nebennierenrindenhormon und Vitamin C. Dtsch. med. Wschr. 1936, 1123.
598. **Berger, E.** Die experimentellen Voraussetzungen einer Behandlung der Diphtherie mit Vitamin C und Nebennierenrindenhormon. Klin. Wschr. 1937, 1177.
599. **Bieling, R.** Die Wirkung von Bakteriengiften auf unterernährte Tiere (Tuberkulin, Diphtherietoxin). Z. Hyg. 104, 518, 1925.
600. **Bock, H. und Großmann, H.** Über die Wirkung des Vitamins C auf die Widerstandsfähigkeit gegen die experimentelle Conjunctivadiphtherie. Mschr. Kinderhlk. 65, 35, 1936.
601. **Cardoso, D. M.** Toxine diphtérique et vitamine C. C. r. Soc. Biol. 119, 749, 1935.
602. **Cramer, W. and Kingsbury, A. N.** Local and general defences against infections, and the effect on them of vitamin-deficiency. Brit. J. exp. Pathol. 7, 95, 1926.
603. **Cramer, W.** Fever, infections and thyroid-adrenal apparatus. Brit. J. exp. Pathol. 5, 300, 1924.
604. **Dieckhoff, J. und Schulze, E.** Hypophysenvorderlappen, Schilddrüse und Nebennierenrinde bei experimenteller Diphtherieintoxikation. Arch. exp. Pathol. und Pharmak. 186, 462, 1937.
605. **Dieckhoff, J.** Zur Frage der Nebennierenrindeninsuffizienz bei klinischer Diphtherie und experimenteller Diphtherieintoxikation. Mschr. Kinderhlk. 84, 1, 1940.
606. **Dieckhoff, J.** Leberfunktion bei experimenteller Diphtherieintoxikation. Z. exp. Med. 100, 654, 1937.
607. **Dieckhoff, J.** Stoffwechseluntersuchungen bei Diphtherie. I. Mitt. Der Natrium- und Chlorstoffwechsel im Blut und Gewebe bei experimenteller Diphtherieintoxikation und toxischer Diphtherieerkrankung. Z. exp. Med. 105, 607, 1939.

608. **Dieckhoff, J.** Stoffwechseluntersuchungen bei Diphtherie. II. Mitt. Eiweißstoffwechseluntersuchungen bei toxischer Diphtherie und experimenteller Diphtherieintoxikation. Z. exp. Med. 105, 622, 1939.
609. **Dieckhoff, J.** Stoffwechselveränderungen bei Diphtherie und ihre Beeinflussung durch Nebennierenrindenhormon und Vitamin C. Dtsch. med. Wschr. 1939, 1416.
610. **Dieckhoff, J. und Laurentius, P.** Zur Behandlung der experimentellen Diphtherieintoxikation. Z. exp. Med. 99, 597, 1936.
611. **Dieckhoff, J. und Schüler, K.** Zur Behandlung der toxischen Diphtherie mit Vitamin C und Nebennierenrindenhormon. Klin. Wschr. 1938, 936.
612. **Dietrich, A. und Kaufmann, E.** Die Nebennieren unter Einwirkung von Diphtherietoxin und -antitoxin. Z. exp. Med. 14, 357, 1921.
613. **Ebel, A. und Mautner, H.** Experimentelle Beiträge zur Therapie der Diphtherie. Wien. klin. Wschr. 1936, 464.
614. **Ehrismann, O.** Die Vitamine des Menschen in der Bakteriologie und Immunitätslehre. Erg. Hyg. 25, 499, 1943.
615. **Ehrmann, R.** Zur Physiologie und experimentellen Pathologie der Adrenalinsekretion. Arch. exp. Pathol. u. Pharmak. 55, 39, 1906.
616. **Engelhardt, H.** Zur Therapie der malignen und toxischen Diphtherie mit Nebennierenrindenextrakt und Vitamin C. Z. Kinderhlk. 60, 660, 1939.
617. **v. Gagyi, P.** Pathogene Bakterien und Vitamin C. I. Über Diphtheriebakterien und Vitamin C. Mschr. Kinderhlk. 87, 41, 1941.
618. **Ghosh, B.** J. indian chem. Soc. 16, 241, 1939.
619. **Ghosh, B. and Guha, B. C.** J. Indian chem. Soc. 15, 443, 1938.
620. **Giroud, A. et Martinet, M.** C. r. Soc. Biol. 135, 365, 1941.
621. **Gluchow, K. T.** Die Wirkung des Diphtherietoxins im alkalischen Milieu auf den Organismus des Kaninchens. Archiv biologicheskih nauk (russian) 40, 167, 1940.
622. **v. Groeer, F. und Hecht, A. F.** Zur Kenntnis des Adrenalins. I. Über die Änderung der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins nach Behandlung desselben mit bakteriellen Produkten. Biochem. Z. 102, 1, 1920.
623. **Haas, R.** Über den Einfluß einer subletalen Diphtherievergiftung auf den C-Vitamingehalt der Nebennieren beim Meerschweinchen. Z. Immunfschg. 91, 203, 1937.
624. **Harde, E.** Acide ascorbique (vitamine C) et intoxications. C. r. Acad. Sciences, 199, 618, 1934.
625. **Harris, L. J., Passmore, R. and Pagel, W.** Vitamin C and infection. Influence of infection on the vitamin C content of the tissues of animal. Lancet, 1937, II, 183.
626. **Hartmann, F. A. and Macdonald, J. J.** The effect of diphtheria toxin on the adrenals. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 23, 722, 1926.
627. **Herbrand, W.** Die funktionelle und therapeutische Bedeutung des Nebennierenrindenhormons. Dtsch. med. Wschr. 1936, 1130.
628. **Herbrand, W.** Ein neuer Test für das Nebennierenrindenhormon und die Ascorbinsäure an diphtherievergifteten Meerschweinchen. Endokrinologie, 16, 236, 1935.
629. **Hertel, H. und Arnold, L.** Quantitative Ascorbinsäurebestimmungen im Blutserum und Harn unter besonderer Berücksichtigung der Diphtherie und Pneumonie. Z. für Verdauungs- und Stoffwechsel-Krankheiten. 1, 258, 1939.
630. **Hoffmann-Wülfing, H.** Versuche über die Abschwächung der Diphtherievergiftung durch den Nebennierenrindenextrakt „Cortidyn" und durch Sympathol. Z. exp. Med. 101, 131, 1937.
631. **v. Jeney, A., v. Gagyi, J. und Baranyai, P.** Die mildernde Wirkung der Ascorbinsäure auf die Diphtherieintoxikation bei Meerschweinchen. Dtsch. med. Wschr. 1936, 54.
632. **King, C. G. and Menten, M. L.** The influence of vitamin C level upon resistance to diphtheria toxin. J. of Nutrition, 10, 129, 1935.

633. **King, C. G., Musulin, R. R. and Swanson, W. F.** Americ. J. of Public Health, 30, 1068, 1940.
634. **Kossel, A.** Über die Wirkung der 1-Ascorbinsäure und Fruchtsaft auf die Meerschweinchennebennieren bei experimenteller Diphtherieintoxikation. Z. exp. Med. 103, 94, 1938.
635. **Kumagai, K., Yamagami, Sh., Nikai, Y. und Imai, Sh.** Über die Wirkung des Vitamin C bei nekrotischer Diphtherie. Klin. Wschr. 1937, 987.
636. **Kündiger, A. und Salus, F.** Beobachtungen über die Vitamin C-Ausscheidung im Harn während der Diphtherieerkrankung. Arch. Kinderhlk. 116, 125, 1939.
637. **Leede, H. W.** Beiträge zur Diphtherie mit besonderer Berücksichtigung der pathologisch-anatomischen Organ- und bakteriologischen Leichenbefunde in ihrem Verhalten zum klinischen Bilde. Z. klin. Med. 77, 297, 1913.
638. **Levy.** Z. exp. Med. 9, 308, 1919.
639. **Locatelli, P.** Glutatione e tossina difterica. Nota II. Azione della tossina difterica sul glutatione in vitro. Boll. Ist. sieroterap. milan. 17, 400, 1938.
640. **Locatelli, P.** Glutatione e tossina difterica. Nota III. Ulteriori ricerche sull'azione della tossina difterica in vitro. Boll. Ist. sieroterap. milan. 18, 234, 1939.
641. **Locatelli, P.** Glutatione e tossina difterica. Nota IV. Il comportamento del glutatione ematico dopo l'iniezione endovenosa di forti dosi di tossina difterica. Boll. Ist. sieroterap. milan. 18, 242, 1939.
642. **Locatelli, P.** Glutatione e tossina difterica. Nota V. Nuove ricerche sul comportamento del glutation ematico dopo l'iniezione di forti dosi di tossina difterica. Boll. Ist. sieroterap. milan. 19, 551, 1940.
643. **Locatelli, P.** Glutatione e tossina difterica. Nota VI. Sul ricupero di glutatione sulle miscele glutatione ridotto tossina difterica. Boll. Ist. sieroterap. 21, 297, 1942.
644. **Locatelli, P.** Glutatione ed acido ascorbico delle ghiandole soprarenali nelle cavie avvelenate con tossina difterica. Boll. Ist. sieroterap. milan. 20, 424, 1941.
645. **Lotze, H. und Thaddea, S.** Die experimentelle Meerschweinchen-Diphtherieintoxikation und ihre unspezifische Beeinflussung durch körpereigene Substanzen. Klin. Wschr. 1936, 1512.
646. **Lotze, H. und Thaddea, S.** Experimentelle Studien am Modell der Meerschweinchen-Diphtherieintoxikation. Virchows Arch. 300, 685, 1937.
647. **Lyman, C. M. and King, C. G.** The effect of diphtheria toxin on the vitamin C content of guinea pig tissues. J. of Pharmacol. 56, 209, 1936.
648. **Maclean, A.** The suprarenal glands in diphtheria. J. of Hygiene, 37, 345, 1937.
649. **Molinelli, E.** Rev. sud-améric. d'Endocrinologie, 9, 902, 1926.
650. **Mouriquand, G., Rochaix, A. et Michel, P.** Carence et infections expérimentales aigues du cobaye. C. r. Soc. Biol. 89, 247, 1923.
651. **Mouriquand, G., Sédaillan, P. et Leulier, A.** Toxine diphtérique et corticosurrénale. C. r. Soc. Biol. 99, 1923, 1928; Presse méd. 1927, 648.
652. **Mouriquand, G. Sédaillan, P. et Coeur, A.** Intoxications diphtériques expérimentales et acide ascorbique des surrénales. C. r. Soc. Biol. 120, 216, 1935.
653. **Mutow, T.** Influence of diphtheria toxin on the epinephrine content of the suprarenals in rabbits. Tohoku J. of exp. Med. 31, 319, 1937.
654. **Nuzzi.** Boll. Soc. Biol. sperim. 10, 710, 1935.
655. **Oppenheim, R. et Loeper, M.** Lésions des capsules surrénales dans quelques infections expérimentales. C. r. Soc. Biol. 11, 318, 1901.
656. **Otto, H.** Die Behandlung der Diphtherie mit Ascorbinsäure. Klin. Wschr. 1936, 1510.
657. **Otto, H.** Über die Wirksamkeit von Nebennierenrinde und Ascorbinsäure bei maligner Diphtherie. Klin. Wschr. 1938, 1653.
658. **Parvis, D.** Esiste parallelismo tra contenuto in acido ascorbico degli orgain e sensibilità alla tossina difterica. Arch. ital. Med. sperim. 8, 293, 1941.

659. **Pesch, K. und Strelow, K.** Der Einfluß der Nebennierenbestandteile auf das Wachstum von Bakterien und deren Toxinbildung. Biochem. Z. 140, 353, 1923.
660. **Salassa, M. R.** Acido ascorbico nel sangue dei difterici. Giorn. Batter. 26, 548, 1941.
661. **Schmidt, H.** Versuche zur therapeutischen Beeinflussung der Diphtheriegiftwirkung beim Meerschweinchen durch C-Vitamin und Nebennierenrindenhormon-Präparate. Dtsch. med. Wschr. 1937, 1003.
662.
663. **Scott, W., Bradford, W. L., Hartman, F. A. and McCoy, O. R.** Endocrinology, 17, 529, 1933.
664. **Sigal, A.** Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 42, 163, 1939.
665. **Sigal, A. and King, C. G.** J. of Pharmacol. 61, 1, 1937.
666. **Steinhardt, T. und Türk, E.** Zur Pancortextherapie der schweren Diphtherie. Arch. Kinderhlk. 111, 193, 197.
667. **Strubell, A.** Über den Einfluß des Diphtherietoxins auf die Nebennieren. Z. Hyg. 65, 145, 1910.
668. **Szirmai, F.** Behandlung der toxischen Diphtherie mit großen Serumdosen und mit Ascorbinsäure. Arch. Kinderhlk. 120, 23, 1940.
669. **Thaddea, S.** Infekt und Nebennierenrinde. Klin. Wschr. 1935, 1275.
670. **Thaddea, S.** C-Vitamin und Infektabwehr. Klin. Wschr. 1937, 856.
671. **Thaddea, S.** Nebennierenrindenfunktion unter klinischen und therapeutischen Gesichtspunkten. Dtsch. med. Wschr. 1936, 1117, 1171.
672. **Thaddea, S. und Hofmeiser, W.** Die Bedeutung des C-Vitamins für Infektionsablauf und Krankheitsabwehr. Z. klin. Med. 132, 379, 1937.
673. **Tonutti.** Histochemische Befunde an den Diphtherie-Nebennieren mittels der Plasma-Reaktion. Klin. Wschr. 1941, 1196.
674. **Torrance, C. C.** Effect of diphtheria toxin upon vitamin C in adrenals in guinea pigs. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 35, 654, 1937.
675. **Torrance, C. C.** Relation of suprarenals hemorrhage to loss of vitamin C in experimental diphtherial intoxication. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 41, 421, 1939.
676. **Torrance, C. C.** J. of biol. Chem. 132, 575, 1940.
677. **Torrance, C. C.** J. of biol. Chem. 121, 31, 1937.
678. **Tron, G.** Acide ascorbique et traitement de la diphtérie maligne. Presse médic. 1936, 398.
679. **Ulrich, J.** Untersuchungen über die Ursache der Immunität der weißen Maus gegen die Diphtherievergiftung. Z. Immunfschg. 95, 399, 1939.
680. **Vasile, B.** Ricerche sull 'azine biologica della vitamina C (acido ascorbico). Nota II. Azione della vitamina C nelle intossicazioni sperimentali difterica, tetanica e dissenterica. Boll. Ist. sieroterap. milan. 17, 460, 1938.
681. **Weber, H.** La vitamine C et l'intoxication expérimentale diphtérique et botulique. C. r. Soc. Biol. 126, 1029, 1937.
682. **Weed, L. A. and Fenlon, R.** J. Lab. & clin. Med. 23, 1213, 1938.
683. **Werner, S.** Zur Therapie der malignen Diphtherie mit Vitamin C und Nebennierenrindenextrakt. Klin. Wschr. 1938, 17.
684. **Whitehead, R. W. and Fox, C. A.** Endocrinology, 20, 93, 1936.
685. **Widenbauer, F. und Saretz, S.** Untersuchungen über die antitoxische Wirkung von Vitamin C auf Diphtherietoxin im Meerschweinchen. Klin. Wschr. 1936, 1131.
686. **Woldrich, A. und Lorenz, W.** C-Vitamin-Ausscheidung und -Bedarf bei Diphtherie. Wien. med. Wschr. 1942, 425.
687. **Wülfing, M.** Die Veränderungen der Nebennierenrinde bei Infektionskrankheiten. Virchows Archiv, 253, 239, 1924.
688. **Yen, A. C. H., Kurotchkin, T. J. and Chang, H. C.** A study on the effect of cortin upon diphtheria intoxication in guinea-pigs. China Med. Journal. Suppl. I, 251, 1936.

689. **Zilva, S. S.** The alleged antitoxic action of vitamin C in diphtheria. Brit. J. exp. Pathol. 18, 449, 1937.
690. **Zischinsky, H.** Über die Behandlung der diphtherischen Kreislaufstörungen. Münch. med. Wschr. 1936, 1823.

### 5. Wirkung auf die übrigen endokrinen Drüsen

691. **Andrejewa-Kostygowa, A. P.** Arch. Inst. exp. Med. (russian) 1, 109, 1934.
692. **Argaud, R. et Pequé, M.** Sur la pullulation des Mastzellen dans le thymus des diphtériques. C. r. Soc. Biol. 100, 833, 1929.
693. **Bojew, W. T.** Veränderungen in den Epithelkörperchen bei Hunden unter dem Einfluß der Vergiftung mit Diphtherietoxin. Virchows Archiv, 270, 723, 1928.
694. **Combiescu, D.** Sur les lésions du pancréas dans la diphtérie. C. r. Soc. Biol. 115, 670, 1934.
695. **Combiescu, D. und Jonescu-Botez, V.** Untersuchungen über experimentelle Diphtherie. Die experimentelle diphtherische Infektion des Ziesels (Citellus citellus L.). Z. Hyg. 123, 709, 1942.
696. **Crespi Gherzi, R. A.** Anales Asoc. quimica Argentina, 19, 173, 1931.
697. **Donalson, L. C. and Voewald, A. J.** Americ. Review of Tuberculosis 27, 401, 1933.
698. **Locatelli, P.** Sull 'azione della tirossina e degli estrati tireotropi negli animali avvelenati con tossina difterica. Boll. Ist. siaroterap. milan. 17, 61, 1938.
699. **Locatelli, P.** Glutatione e tossina difterica. Nota VII. Ipertrofia delle ghiandole soprarenali nella cavia, inseguito all'iniezione di miscele di glutatione ridotto e tossina difterica. Boll. Ist. sieroterap. Milan. 22, 81, 1943.
700. **Magara, M.** Sur le role anti-toxi-inféctieux de l'hormone sexuelle. C. r. Soc. Biol. 125, 779, 1937.
701. **Pfeiffer, C. A.** Endocrinology, 21, 260, 1937.
702. **Schallock, G.** Dissertation, Hamburg, 1937.
703. **Scheff, G. und Horner, E.** Das Verhalten der Lipoide bei experimentellen Infektionen. Biochem. Z. 248, 181, 1932.
704. **Schellhorn, G.** Dissertation, Hamburg, 1937.
705. **Wiethold, F.** Hypophysenuntersuchungen bei experimenteller Meerschweinchendiphtherie. Z. Pathologie, 27, 251, 1922.

### 6. Wirkung anderer Vitamine als C

706. **Butturini, U.** Paralisi difteriche e vitamina E. Nota IV. Azione della vitamina E sul quadri istologico del miocardo nell'intossicazione difterica sperimentale. Pathologica (Genova) 33, 409, 1941.
707. **Butturini, U.** Die vorbeugende und heilende Wirkung des Vitamins E auf das klinische und histopathologische Bild der Diphtherie. Klin. Wschr. 1942, 609.
708. **Chalier, J. et Jeune, M.** Essai d'immunisation du cobaye contre l'intoxication diphtérique par la vitamine A. C. r. Soc. Biol. 129, 603, 1938.
709. **Donnovan, G. E. and Bannister, M.** Brit. med. J. 1941, I, 359.
710. **Frey, L.** Vitamin $B_1$ und postdiphtherische Zwerchfell-Lähmung. Z. Kinderhlk. 61, 730, 1940.
711. **Perosa, L. e de Vita, P.** Su i rapporti tra acido nicotinico e surrene. Ricerche sulla eventuale azione dell'acido nicotinico nella intossicazione difterica. Boll. Ist. sieroterap. milan. 21, 341, 1942.

712. **Peters, B. A. and Cunningham, R. N.** Vitamin $B_1$ and diphtheria. Lancet, 1937, I, 563.
713. **Reinhard, H. und Schwartzer, K.** Der Vitamin $B_1$-Gehalt des Urins bei postdiphtherischen Lähmungen. Arch. Kinderhlk. 118, 192, 1939.
714. **Schröter, E.** Betaxin bei postdiphtherischer Lähmung. Fortschritte der Therapie, 13, 473, 1937.
715. **Tecilazic, F.** Über die Therapie und die Prophylaxe der postdiphtherischen Paralysen mit Vitamin $B_1$. Minerva medica (Torino), 1938, 451.
716. **Torrance, C. C.** The relation between vitamin A-metabolism and susceptibility to diphtheria toxin. Amer. J. of Hygiene, 18, 375, 1933.

**7. Wirkung auf die Nieren, Stickstoffwechsel, Blutdruck**

717. **Brugsch, H. und Fülling, G.** Die Bedeutung der Reststickstoffbestimmung und der Nierenschädigung bei der malignen Diphtherie. Klin. Wschr. 1936, 366.
718. **Catel, W.** Diphterie und Blutdrucksteigerung. Mschr. Kinderhlk. 64, 363, 1935.
719. **Chalier, J., Jeune, M. et Fournier, R.** Azotémie expérimentale par injection de la toxine diphtérique chez le cobaye. Presse médic. 1935, 1290.
720. **Chalier, J., Jeune, M. et Revol, L.** L'Azotémie dans l'intoxication diphtérique expérimentale du cobaye. Presse médic. 1937, 1773.
721. **Deußing.** Arch. Klin. Med. 122, 423, 1917.
722. **Höffken, K. H.** Die Bedeutung der Reststickstoffbestimmungen für die Prognose der Diphtherieerkrankungen. Mschr. Kinderhlk. 72, 1, 1938.
723. **Künzel, O.** Die prognostische Bedeutung der Albuminurie bei der Diphtherie. Dtsch. med. Wschr. 1939, 328.
724. **Patrassi, G.** Über die durch Diphtherietoxin experimentell hervorgerufene umschriebene Glomerulonephritis (mit besonderer Berücksichtigung der Rolle der Deckzellen der Malpighischen Körperchen). Krankheitsforschung, 9, 340, 1932.
725. **Randerath.** Zbl. Pathol. 59, 193, 1934.
726. **Stiepel, H.** Über die Entstehung der Nierenblutungen bei der Diphtherie. Mschr. Kinderhlk. 85, 301, 1941.
727. **Vacirca, F.** Sul metabolismo del bacillo difterico. Una sostanza antiuranio „fattore V" che protegge il rene dall'azione nociva dell'uranio e ne modifica l'eliminazione, nel filtrato di cultura del bacillo difterico. Boll. Ist. sieroterap. Milan. 22, 39, 1943.
728. **Vacirca, F.** Über den Stoffwechsel des Diphtheriebazillus. Eine antiuranische Substanz — „V-Faktor" —, welche die Niere vor der schädlichen Wirkung des Urans schützt und dessen Ausscheidung verändert. Z. Immunfschg. 103, 188, 1943.
729. **Voß, R.** Blutdrucksteigerung nach Diphtherie. Mschr. Kinderhlk. 85, 301, 1941.

**8. Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel**

730. **Addari, F. und Gottdenker, F.** Kohlehydratstoffwechsel bei diphtherievergifteten Meerschweinchen. Klin. Wschr. 1937, 678.
731.
732. **Boccuzzi, G. e de Mattia, R.** Giorn. Reale Acad. Med. Torino, 102, 153, 1939.
733. **Bolt, W.** Stoffwechselphysiologische Untersuchungen bei Diphtherie. Das Verhalten des Grundumsatzes im Verlaufe der Diphtherie. Zbl. inn. Med. 61, 739, 1940.
734. **Brems, A.** Störungen des Kohlehydratstoffwechsels bei Diphtheriepatienten. Klin. Wschr. 1932, 895.

735. **Csàpo, J.** Der organische Säuregehalt des Harns bei Diphtherie. Arch. Kinderhlk. 97, 53, 1932.
736. **Cori, C. F. and G. T.** J. biol. Chem. 100, 323, 1933.
737. **Corkill, B.** J. gener. Physiology, 75, 381, 1932.
738. **Dawson, C. R. and Holmes, E.** The metabolism of lactic acid in diphtheritic toxaemia. Brit. J. exp. Pathol. 20, 357, 1939.
739. **Elkeles, A. und Heimann, F.** Über Störungen der Blutzucker-Regulation bei akuten Infektionskrankheiten. Klin. Wschr. 1928, 836.
740. **Grunke, W. und Lotze, H.** Das Verhalten der Harndiastase bei experimenteller Infektion bzw. Intoxikation. Z. exp. Med. 102, 88, 1937.
741. **Grunke, W. und Kampf, H.** Der Glykogengehalt des Meerschweinchenherzens nach Einwirkung von Diphtherietoxin. Z. exp. Med. 91, 471, 1933.
742. **Grunke, W., Schumann, H. und Böhm, H.** Über die Verminderung des Glykogens im Herzen diphtherievergifteter Tiere. Z. exp. Med. 103, 117, 1938.
743. **Hector, F. J.** Carbohydrate metabolism in diphtheria. Lancet, 1926, 642.
744. **v. Kiß, P. und Kulczar, M.** Die Veränderungen des Gesamtkohlehydratgehalts des Herzmuskels auf Wirkung des Diphtherietoxins. Z. Kinderhlk. 56, 465, 1934.
745. **Lawrence, R. D. and Buckley, O. B.** The inhibition of insulin action by toxanemias and its explantation. I. The effect of diphtheria toxin on blood-sugar and insulin action in rabbits. Brit. J. exp. Pathol. 8, 58, 1927.
746. **De Marchi, G. e Roncallo, E.** Azione dell'ormone cortico surrenale addizionato a vitamina C e sul ricambio degli idrati di carbonico nell'intossicazione difterica sperimentale. Ormoni, 1, 843, 1939.
747. **Mikami, Sh.** The blood sugar level and epinephrine content of the suprarenals of the rabbit in diphtheritic intoxication. Tohoku J. of exp. Med. 6, 299, 1925.
748. **Martini, E. E.** Z. Kinderhlk. 51, 483, 1931.
749. **Netzley, R. E.** The effect of diphtheria toxin on the action of insulin. A study of the effect of infections on carbohydrate metabolism in diabetes mellitus. Amer. J. of Dis. of Children, 37, 511, 1929.
750. **Peters, B. A. and Cunningham, R. N.** Biochem. J. 35, 219, 1941.
751. **Rosenthal, F.** Über die Störungen des Kohlehydratstoffwechsels bei der experimentellen Diphtherievergiftung. Orch. exp. Pathol. 75, 99, 1914.
752. **Schumann, H.** Über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzmuskels diphtheriekranker und diphtherievergifteter Tiere. Z. exp. Med. 105, 14, 1939.
753. **Wladimirowa, E. A.** Der Gehalt des Blutes diphtherie- und scharlachkranker Kinder an organischen Säuren. Mschr. Kinderhlk. 50, 374, 1930.
754. **Zubkowa, S. et Kassil, G.** Influence de l'intoxication diphtérique sur le système catalase-anticatalase dans le sang et les diverses tissus. C. r. Soc. Biol. 97, 650, 1927.
754a. **Heilmeyer, L.** Die Eisentherapie und ihre Grundlagen. Jena, 1944.
754b. **Heilmeyer, Keyderling und Stüwe.** Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe. Jena, 1941.

**9. Beteiligung der Schwermetalle**

755. **Hettche, H. O.** Der Einfluß von Eisen, Mangan und Kupfer auf den Verlauf der Diphtherietoxinvergiftung. Z. Immunfschg. 97, 81, 1939.
755a. **Locke, Maine and Rosbash.** J. clin. Invest. 11, 527, 1932.
756. **Schäfer, K. H.** Über den Einfluß von Infektionen und ähnlichen Vorgängen auf den Eisenstoffwechsel. Z. exp. Med. 110, 678, 697 und 713, 1943.
756a. **Thoenes und Aschaffenburg.** Der Eisenstoffwechsel des wachsenden Organismus. Abhandl. aus d. Gebiete d. Kinderhlk. 1934, Heft 35.

757. **Wohlfeil, T.** Über Fermenthemmung und -förderung bakterieller Fermente im infizierten Tierkörper. I. Verlauf der Diphtherieinfektion unter der Wirkung von Schwermetallen, Phosphaten und Magnesium und deren Bedeutung für die Theorie der Aggressine. Zbl. Bakt. I. Orig. 139, 417, 1937.
758. **Wohlfeil, T. und Beper, H.** Über Fermenthemmung und -förderung bakterieller Fermente im infizierten Tierkörper. III. Die Beeinflußbarkeit der antitoxischen und antiinfektiosen Diphtherieimmunität des Meerschweinchens durch Einverleibung von Ferroammoniumsulfat, Ferroascorbinsäure, Phosphate und Magnesium. Zbl. Bakt. I. Orig. 142, 439, 1938.

**10. Wirkung auf den Herzmuskel**

759. **Beer, A.** Über Klinik, Histologie und Theorie der diphtherischen Herzschädigung. Erg. inn. Med. 59; 339, 1940.
760. **Beer, A.** Zur Frage der Dauerschädigung des kindlichen Herzens nach Diphtherie. Jahrb. Kinderhlk. 148, 152, 1936.
761. **Boller, R.** Der Adrenalinversuch bei Myokardschäden nach Diphtherie. Klin. Wschr. 1940, 991.
762. **Bolt, W. und Rotkopf, H.** Über die Veränderungen im Elektrokardiogramm bei Hypoxämie nach Diphtherie. Z. exp. Med. 108, 416, 1940.
763. **Brugsch, Th.** Das Diphtherieherz und seine Behandlung. Ther. Gegenw. 1943, 41.
764. **Clauberg, K. W. und Döring, H. P.** Über die Brauchbarkeit des Elektrokardiogramms im Meerschweinchenversuch zur Beurteilung der Diphtherievergiftung. Klin. Wschr. 1937, 1492.
765. **Dieckhoff, J. und Schulze, E.** Die Empfindlichkeit des diphtherietoxingeschädigten Katzenherzens gegen Digitoxin und Strophantin. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 183, 561, 1936.
766. **Dieckhoff, J. und Schulze, E.** Die Wirkung therapeutischer Gaben von Digitalis und Strophanthin auf das diphtherietoxingeschädigte Katzenherz. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 185, 418, 1937.
767. **Edmunds, C. W. and Smith, R. G.** J. of Pharmacol. 61, 37, 1937.
768. **Grunke, W.** Die Rezileitungsstörungen des Herzens bei der Diphtherie. Z. klin. Med. 120, 40, 1932.
769. **Guckelberger, M.** Neue experimentelle Arbeiten über Beginn und Ausbreitung der diphtherischen Schädigung des Herzmuskels. Z. exp. Med. 97, 749, 1936.
770. **Guckelberger, M.** Weitere experimentelle Untersuchungen über Beginn und Ausbreitung der diphtherischen Schädigung des Herzmuskels. Z. exp. Med. 100, 294, 1937.
771. **Hecht, A. F.** Zur Frage der Dauerschädigung des Kreislaufapparates nach schwerer Diphtherie. Wien. klin. Wschr. 1932, 865.
772. **Josephsthal, F.** Vergleichende Untersuchungen über Veränderungen des Elektrokardiogramms bei menschlicher Diphtherie und bei experimenteller Diphtherietoxinvergiftung. Z. exp. Med. 74, 180, 1930.
773. **Kielhorn, E.** Elektrokardiographische Nachuntersuchungen bei Kindern mit früherer akuter diphtherischer Myokardschädigung. Mschr. Kinderhlk. 61; 406, 1935.
774. **Kienle, F. und Witzemann, M.** Die Prognose des diphtherischen Herzschadens. Med. Welt, 1942, 859, 884.
775. **v. Kiß, P.** Dauerschädigung des Herzens nach Diphtherie. Z. Kinderhlk. 57, 284, 1935.
776. **Koppel, C.** Über die Bedeutung der Elektrokardiographie für die Beurteilung von Diphtheriekranken. Jahrb. Kinderhlk. 147, 171, 1936.

777. **Michelazzi, L. e Holz, S.** L'influenza della tossina tetanica e difterica sopra il consumo di $O_2$ da parte di alcuni tessuti di cavia e di coniglio. Boll. Ist. sieroterap. milan. 18, 509, 1938.

778. **Myers, G. N.** J. of Pharmacol. 44, 191, 1932.

779. **Nadrai, A.** Die respiratorische Arrhythmie bei Diphtherie. Jahrb. Kinderhlk. 152, 35, 1938.

780. **Norpoth, L.** Die Myocarditis bei und nach Diphtherie. Med. Klinik, 1939, 272.

781. **Oheim, L.** Herzmuskelveränderungen bei Diphtherie, ihre zeitliche Aufeinanderfolge und topographische Verteilung. Beitr. patholog. Anatomie, 100, 195, 1938.

782. **Parade, G. W. und Petersen, U.** Elektrokardiographische Beobachtungen bei Diphtherie. Jahrb. Kinderhlk. 145, 22, 1935.

783. **Reinhold, M.** Über die Einwirkung des Diphtherie- und Scharlachtoxins auf das Herz des Hundes unter den Verhältnissen des Starling'schen Präparates. Klinitscheskaja Medizina (russian), 13, 258, 1935.

784. **Roufogalis, S. und Ströder, J.** Über den Einfluß des Diphtherietoxins auf das isolierte Kaltblüterherz. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 195, 363, 1940.

785. **Sagara, S.** Experimental studies on the action of the toxin of the diphtheria bacillus on the heart function. Jap. J. of exp. Med. 16, 299, 1938.

786. **Schuppler, H.** Zur Frage der dauernden Herzschädigung nach Diphtherie. Jahrb. Kinderhlk. 145, 135, 1935.

787. **Schwingel, E.** Die Diagnose der postdiphtherischen Myokardschädigung. Klin. Wschr. 1939, 369.

788. **Strauch, F. W.** Das Diphtherieherz und seine Behandlung. Dtsch. med. Wschr. 1941, 619.

789. **Steffens.** Dissertation. Hamburg, 1937.

790. **Ströder, J. und Roufogalis, S.** Kritische Betrachtungen und Untersuchungen über den Wert prophylaktischer Strophanthinbehandlung bei der toxischen Diphtherie. Z. Kinderhlk. 61, 681, 1940.

### 11. Wirkung auf das Gehirn und die peripheren Nerven

791. **Beer, A.** Die diphterische Nervenschädigung. Erg. inn. Medizin, 60, 657, 1941.

792. **Debré, R., Ramon, G. et Uhry, P.** Sur les paralysies diphtériques expérimentales. Presse médic. 1933, 334.

793. **Doscocil, A.** Spätlähmungen nach Diphtherie. Cas. lek. ces. 1936, 912.

794. **Ekerfors, H.** Action des toxines diphtérieque et scarlatineuse sur l'inervation autonome de l'intestin et de l'utérus. C. r. Soc. Biol. 103, 433, 1930.

795. **Glaser, J.** Zur Histologie und Pathogenese der diphtherischen Lähmungen. Z. Neurologie, 164, 707, 1939.

796. **Hosoya, Ozawa, Tanaka.** Jap. J. exp. Med. 12, 1, 1934; 14, 105, 1936.

797. **v. Kiß, P. und Horànyi-Hecht, B.** Jahrb. Kinderhlk. 143, 363, 1934.

798. **Massière, P.** Les encéphalopathies de la diphtérie.. Presse médicale. 1933, 732.

799. **Müller, W.** Harnstoffablagerungen im Gehirn bei einer größeren Anzahl von Todesfällen an toxischer Diphtherie. Virchows Arch. 297, 141, 1936.

800. **Müller, W. und Jacoby, G.** Der Zusammenhang zwischen Hirnschwellung und cerebralen Erscheinungen bei der toxischen Diphtherie. Klin. Wschr. 1936, 819.

801. **Myers, G. N.** J. of Pharmacol. 49, 483, 1933.

802. **Ramon, G., Debré, R. et Uhry, P.** Paralysie diphtérique expérimentale et l'immunité antitoxique active. Presse médic. 1932, 779.

803. **Ramon, G., Debré, R. et Uhry, P.** Sur la paralysie diphtérique expérimentale. Moyens d'étude. C. r. Soc. Biol. 109, 724, 1932.

804. **Ramon, G., Debré, R. et Uhry, P.** L'action du sérum antidiphtérique dans la paralysie diphtérique experimentale. C. r. Soc. Biol. 109, 1349, 1932.

805. **Ramon, G., Debré, R. et Uhry, P.** Recherches sur la fixation de la toxine diphtérique sur les centres nerveux dans la paralysie diphtérique experimentale. C. r. Soc. Biol. 115, 345, 1933.

806. **Ramon, G., Debré, R. et Uhry, P.** La parasysie diphtérique experimentale. Ann. Inst. Pasteur, 52, 5, 1934.

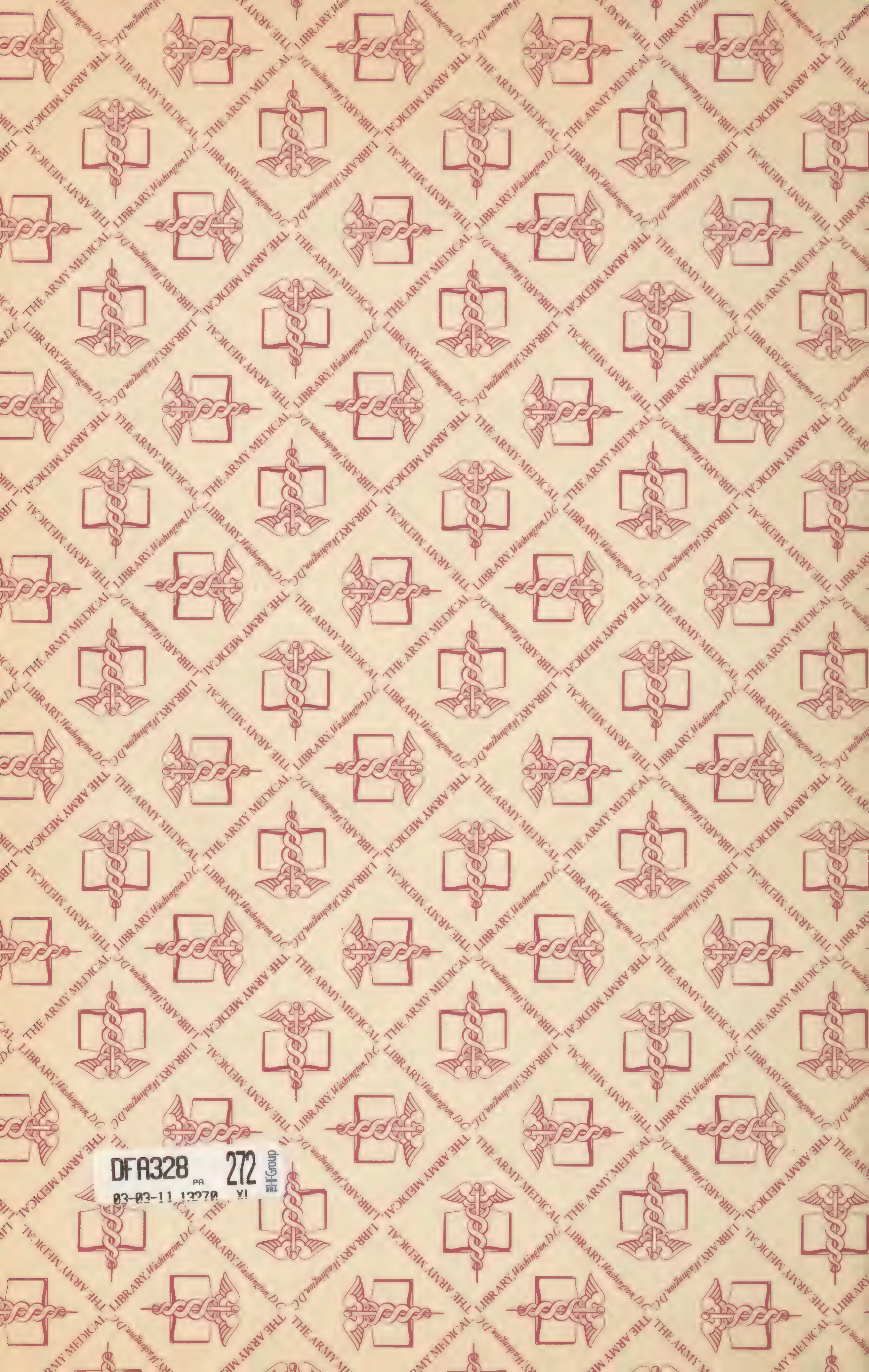
807. **Ruelle, G.** Recherches sur la paralysie diphtérique experimentale. Ann. Inst. Pasteur, 54, 185, 1940.

808. **Tamura, S.** J. of Biochemistry, 31, 1940.

# INHALT






THE ARMY MEDICAL LIBRARY, Washington, D.C.





